

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) U012130-1(51) Internationale Patentklassifikation⁵:

C07C 51/47

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 94/19307

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum:

1. September 1994 (01.09.94)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/AT94/00016

(22) Internationales Anmeldedatum: 17. Februar 1994 (17.02.94)

(30) Prioritätsdaten:

A 310/93

18. Februar 1993 (18.02.93)

AT

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): VOGEL-
BUSCH GESELLSCHAFT M.B.H. [AT/AT]; Blechturm-
gasse 11, A-1050 Wien (AT).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SARHADDAR, Schahroch
[AT/AT]; Mariahilferstrasse 95/1/15, A-1060 Wien
(AT). SCHEIBL, Anton [AT/AT]; Mariahilferstrasse
202/14, A-1150 Wien (AT). BERGHOFER, Emmerich
[AT/AT]; Guggenbergerstrasse 14, A-3021 Preßbaum (AT).
CRAMER, Adalbert [AT/AT]; Sportplatzstrasse 1, A-4661
Roitham (AT).(74) Anwälte: ITZE, Peter usw.; Amerlingstrasse 8, A-1061 Wien
(AT).(81) Bestimmungsstaaten: FI, JP, US, europäisches Patent (AT,
BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, SE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen
Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen
eintreffen.

(54) Title: LACTIC ACID EXTRACTION AND PURIFICATION PROCESS

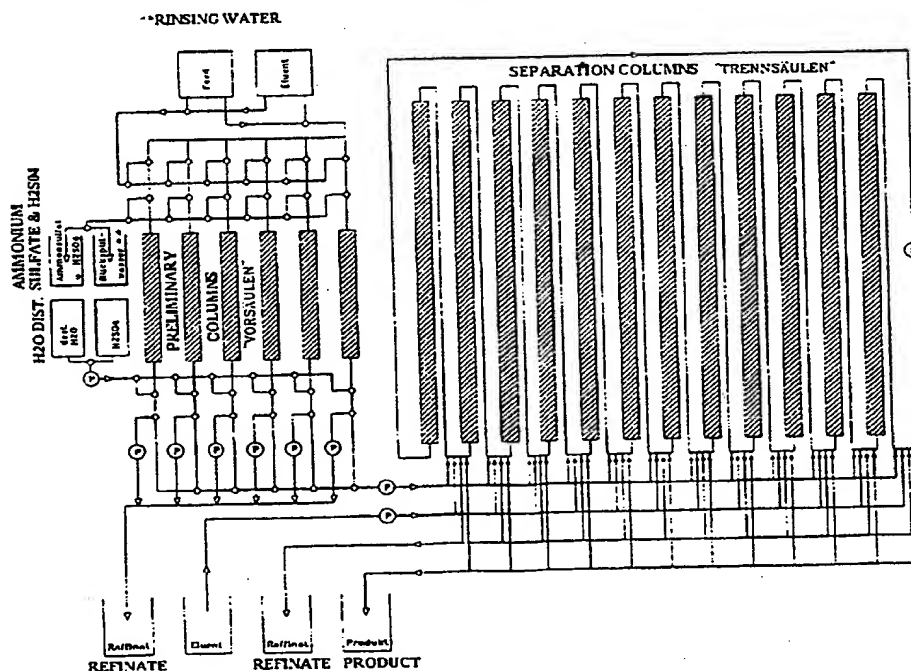
(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR ABTRENNUNG UND REINIGUNG VON MILCHSÄURE

(57) Abstract

A process is disclosed for extracting pure lactic acid from fermentation broths by ion exchange chromatography on a strongly acid cation exchanger, preferably in the H^+ form. In a first step, the NH_4 -lactate coming from the fermentation is converted by authentic ion exchange into the free acid. Preferably said conversion is carried out on a weakly acid cation exchanger in the H^+ form.

(57) Zusammenfassung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Gewinnung reiner Milchsäure aus Fermentationsbrühen durch Ionenaustauschchromatographie an einem stark sauren Kationenaustauscher, bevorzugt in der H^+ -Form, wobei das aus der Fermentation kommende NH_4 -Lactat in einem ersten Schritt durch einen echten Ionenaustausch in die freie Säure überführt wird. Bevorzugt erfolgt diese Überführung an einem schwach sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form.



EE 78 4.1 034 25 US

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Verfahren zur Abtrennung und Reinigung von Milchsäure

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus salz- und kohlenhydrathaltigen, von grobdispersen und lipophilen Verunreinigungen befreiten Substraten (Fermentationslösung).

Die großtechnische Herstellung von Milchsäure, vor allem wenn reine L(+)- bzw. D(-)-Milchsäure gewonnen werden soll, erfolgt heute im überwiegendem Maße durch biotechnologische Verfahren. Dabei unterteilt sich der Herstellungsprozeß:

1) in die eigentliche Herstellung der Milchsäure durch Fermentation eines kohlenhydrathältigen

2) in die Aufarbeitung (down stream processing) der Fermentationslösung zur reinen Säure.

Die Industrie hat sich eine ganze Reihe von Mikroorganismen-Stämme zur Produktion von Milchsäure zu eigen gemacht. Von Bedeutung sind dabei vor allem die homofermentativen Milchsäurebakterien der Gattungen Lactobacillus, Streptococcus und Pediococcus, die aber nur in einem sehr engem pH-Bereich ihre maximale Produktivität erreichen.

Es ist daher notwendig, während der Fermentation nicht nur die für den gewählten Organismus optimale Temperatur, sondern auch den erforderlichen pH-Wert konstant zu halten. Aus diesem Grund werden der Maische vor und/oder während der Fermentation Neutralisationsmittel, wie z.B. Alkalihydroxide, Ca-Carbonat, Kalkmilch oder Ammoniumwasser, zuzugeben, sodaß eine Übersäuerung vermieden, und ständig ein pH-Wert von 5,5 - 6,5 aufrechterhalten wird.

Die Fermentationsmaische enthält also als Hauptbestandteil das Salz der Milchsäure (z.B. NH_4 -Lactat oder Ca-Lactat) neben wenig freier Säure, sowie nicht umgesetzte Ausgangsstoffe (z.B. Zucker), Schwermetalle, Farbstoffe, Stoffwechselnebenprodukte (z.B. Essigsäure), Zellen und Zellfragmente der Mikroorganismen sowie anorganische Salze.

Eine direkte Verwendung der aus der Fermentation kommenden Lösung ist daher nicht möglich, und zur Gewinnung der reinen freien Milchsäure sind noch weitere Aufarbeitungsschritte erforderlich.

Zur Abtrennung und Gewinnung von freier Milchsäure aus der 5 Fermentationsmaische werden mehrere Methoden beschrieben.

Als einfachstes und von den meisten Produzenten angewandtes großtechnisches Reinigungsverfahren hat sich die Fällung der Milchsäure als Ca-Lactat erwiesen. Bei diesem Verfahren wird nach Beendigung des Fermentationsprozesses zunächst die Maische auf ca. 80 - 90° C erhitzt, und der pH-Wert auf 10 - 11 erhöht. Durch 10 diesen Schritt werden die Mikroorganismen abgetötet, die Proteine koaguliert, und das gebildete Ca-Lactat gelöst. Nach Abtrennung aller unlöslichen Bestandteile wird die Maische zur Freisetzung der Milchsäure aus ihrem Salz mit Schwefelsäure angesäuert. Um auch die insbesondere durch Korrosion eingeschleppten Fe- und Cu-Ionen zu entfernen, wird noch Na- oder Ca-hexacyanoferrat (II) zugegeben, und 15 die ausfallenden Ferrocyanidsalze zusammen mit dem Gips über ein Drehfilter oder eine Filterpresse abgetrennt. Färbende Bestandteile werden durch Aktivkohle entfernt. Die erhaltene Dünnsäure wird anschließend auf eine ca. 80 %ige Milchsäure aufkonzentriert, wobei gleichzeitig geringe Mengen mitentstandener, flüchtiger Säuren abgetrennt werden.

20 Bei verbesserten Fällungs-Verfahren wird die Rohmilchsäure zunächst mit Aktivkohle entfärbt und zur restlosen Entfernung noch enthaltener Salze können Reinigungsschritte über Kationenaustauscher nachgeschaltet werden. Die erhaltene kationenfreie Lösung kann nun entweder direkt der Eindampfung bzw. Kristallisation zugeführt oder weiter über einen Anionenaustauscher geleitet werden, um noch 25 vorhandene Fremdanionen, hauptsächlich Sulfat- und Chloridionen, zu entfernen (DD-PS 6740).

Zur weiteren Qualitätsverbesserung, insbesondere des Geruchs und Geschmacks, wird manchmal auch eine oxidative Behandlung mit Wasserstoffperoxid oder Kaliumpermanganat angeschlossen. (CARLOS 30 BELLAPART VILA, 1964, ES 297969)

Alle Fällungsverfahren haben jedoch schwerwiegende Nachteile: Diese sind, neben dem relativ hohen technischen Aufwand, vor allem die durch den Fällungs- bzw. Kristallisationsprozeß verursachten Substanzverluste, die bis zu 20 % der Milchsäure betragen können (HEDING, L.G., Biotechn. Bioeng. 17, 1975, 1363 - 5 1364). Darüber hinaus werden bei diesen Verfahren große Mengen an Hilfschemikalien benötigt. Da in den meisten Fällen die Milchsäure als Ca-Lactat anfällt, welches erst mit Schwefelsäure zur freien Säure und einer äquivalenten Menge Gips umgesetzt werden muß, fallen nicht nur die Kosten für Kalk und Schwefelsäure an, sondern auch jene zur Entsorgung großer Gipsmengen.

10 Die nach diesem "Fällungsverfahren" herstellbare Milchsäurequalität ist "Genußmilchsäure" und damit nur für die Lebensmittelindustrie geeignet. Für die Pharmazie wird allerdings Milchsäure höherer Reinheit benötigt. Soll aus Milchsäure durch Polymerisation abbaubare Kunststoffe erzeugt werden, sind noch höhere Reinheitskriterien erforderlich. Insbesondere ist dabei eine vollkommene
15 Abwesenheit von Kohlenhydraten notwendig. Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, die Milchsäure auf anderem Wege aus der Fermentationslösung abzutrennen, um Milchsäure höherer Qualität (Pharmakopöe-Milchsäure, Plastik-Milchsäure) zu erzeugen.

Eine Möglichkeit, Milchsäure von Pharma-Qualität herzustellen, ist die
20 Wasserdampfdestillation mit überhitztem Heißdampf unter Vakuum. Milchsäure zeigt bekanntlich mit Wasserdampf bei 100° C eine sehr geringe Flüchtigkeit. Die Wasserdampflichkeit kann jedoch erheblich gesteigert werden, wenn man überhitzten Dampf im Temperaturbereich zwischen 160 - 200° C verwendet. Basierend auf diesem Befund wurden Reinigungsverfahren für Milchsäure durch
25 Wasserdampfdestillation ausgearbeitet, die z.B. in den Patenten DK 83589 (1957) oder CS 97136 (1960) ihren Niederschlag fanden. Dieses mit Abstand älteste Verfahren zur Herstellung von Pharmakopöe-Milchsäure hat sich in der Praxis aber nicht durchsetzen können, da wegen der relativen "Nichtflüchtigkeit" der Milchsäure diese Reinigungsmethode viel zu teuer kommt.

Mehr Erfolg hatte allerdings die Flüssig/Flüssig-Extraktion der Milchsäure mit org. Lösungsmitteln. Bei diesem Verfahren wird im Prinzip so vorgegangen, daß die von der Biomasse befreite Fermentationslösung mit Schwefelsäure angesäuert, der ausfallende Gips abfiltriert und schließlich mit Aktivkohle entfärbt und durch 5 Ionenaustausch entsalzt wird. Die so hergestellte Rohmilchsäurelösung wird dann im Vakuum auf eine bestimmte Konzentration eingeeengt und in einer Gegenstromextraktionskolonne mit einem org. Lösungsmittel in Kontakt gebracht. Aus der org. Phase kann die Milchsäure dann entweder durch Rückextraktion mit Wasser oder durch Abdestillieren des org. Lösungsmittel gewonnen werden. Häufig 10 ist nach dem Extraktionsprozeß noch eine Nachbehandlung der Reinmilchsäurelösung mit Aktivkohle und Ionenaustauschern erforderlich, ehe sie auf die übliche Handelskonzentration von meist 80 % aufkonzentriert werden kann.

Ein derartiges Verfahren wird z.B. von JENEMANN (1933) im US-Patent 1906068 beschrieben, wobei als Lösungsmittel Iso-Propyl-Äther verwendet wird.

15 Ein Extraktionsverfahren, das als org. Phase Nitroparaffin verwendet, wird von TINDALL (1940) im US-Patent 2223797 vorgeschlagen.

Auch in jüngerer Zeit hat es nicht an Versuchen gefehlt, den Gewinnungsprozeß für Milchsäure durch Extraktion zu verbessern.

So wird z.B. in der DE-OS 3415141 ein Extraktionsverfahren vorgestellt, bei 20 dem Butanole oder Pentanole als Lösungsmittel verwendet werden. Die Besonderheit bei diesen Verfahren liegt darin, daß die Ca-Lactat enthaltende Brühe sofort nach Beendigung der Fermentation mit Schwefelsäure angesäuert und die erhaltene Suspension, die als Feststoffe Gips und Biomasse enthält, direkt in einer mit hydrophoben Einbauten (z.B. aus Teflon) ausgerüsteten pulsierten 25 Gegenstromkolonne mit dem Lösungsmittel in Berührung gebracht wird. Nach der Extraktion der wäßrigen Suspension durch das Lösungsmittel, die man bevorzugt bei einer Temperatur von 70° C durchführt, entnimmt man der Kolonne eine feststoffhaltige wäßrige Phase und eine feststofffreie org. Phase. Die in der org. Phase gelöste Milchsäure wird schließlich durch Abdestillieren des Reaktionswassers 30 bei 60° - 140° C (gegebenenfalls unter Vakuum) vollständig in den Milchsäureester

überführt. Dieser kann durch Destillation im Vakuum in reiner Form erhalten werden und stellt ein wertvolles Zwischenprodukt da. Die Ester können in bekannter Weise wieder zu Milchsäure und Alkohol gespalten werden, so daß auf diese Weise hochreine Milchsäure pharmazeutischer Qualität erhalten wird.

- 5 Ein großer Nachteil aller Extraktionsmethoden liegt darin, daß die meisten der verwendeten org. Lösungsmittel für Milchsäure nur eine sehr geringen Verteilungskoeffizienten haben, wodurch sehr große Mengen an organischen Lösungsmitteln erforderlich sind.

Der Verteilungskoeffizient für Milchsäure läßt sich allerdings wesentlich
10 verbessern, wenn für die Extraktion eine Mischung aus org. Lösungsmitteln mit einem tertiären Amin verwendet werden. Ein auf dieser Grundlage beruhendes Reinigungsverfahren wird z.B. im US-Patent 4698303 (1987) beschrieben, wobei als Extraktionsmittel vorallem eine Mischung aus etwa 60 - 75 % Isobutylheptylketon und 25 - 40 % Adogen 364 als besonders effizient erwiesen hat. Adogen 364 ist der
15 Handelsname (Sherex Co.) einer Mischung langkettiger (C 8 - C 10) tertiärer Amine.

Bei diesen Reinigungsverfahren bereitet aber die Rückgewinnung der Milchsäure aus der org. Phase gewisse Schwierigkeiten; da sie nur durch Rückextraktion mit einer basischen Lösung (bevorzugt wird Ammoniumhydroxyd verwendet) gelingt. Dies bedeutet, daß nach der Extraktion noch weitere
20 Reinigungsschritte erforderlich sind.

Die durch Flüssig/Flüssig-Extraktion gewonnene Milchsäure ist zwar im wesentlichen aschefrei, enthält allerdings noch andere, aus dem Rohmaterial stammende Verunreinigungen. Um mit dieser Methode Milchsäure pharmazeutischer Qualität zu erhalten, bedarf es einerseits sehr reiner Ausgangsmaschen, sowie
25 andererseits noch zusätzlicher Behandlungen, z.B. mit Aktivkohle, Oxidationsmittel und Ionenaustauschern. (VICKROY, T.B., Lactic Acid in. Comprehensive Biotechnology, Vol 3, 761-776, Pergamon Press) (PECKHAM, G.T., 1944, Chem. Eng. News, 22, 440-443).

Die am häufigsten angewandte Methode zur Herstellung von
30 Pharmakopöe-Milchsäure ist daher die Veresterung der Milchsäure mit niedrigen

Alkoholen (meist Methanol) und der anschließenden Abtrennung der Ester durch fraktionierte Destillation. In der Literatur sind zahlreiche Methoden zur Reinigung von Milchsäure mittels Veresterung beschrieben worden. Bei einem Teil dieser Verfahren wird die, auf eine bestimmte Konzentration eingeeengte Rohmilchsäure, 5 der man im allgemeinen einen sauren Katalysator zusetzt, der Einwirkung von Alkoholdämpfen unterworfen. Mit dem entweichenden Dampfgemisch wird Milchsäure größtenteils als Ester von den Begleitsubstanzen abgetrennt. In einer anschließenden Rektifikationskolonne wird der überschüssige Alkohol abgetrennt und zurückgeführt. Das Methyllactat kann letztlich mit Wasser wieder zu Methanol und 10 Milchsäure hydrolysiert werden.

Die Veresterungsreaktion von konzentrierter Milchsäure mit Methanol in Gegenwart eines sauren Katalysators, stellt hinsichtlich der Reinigung keine Schwierigkeiten dar. So wird z.B. in der DE-OS 1912730 ein Verfahren zur Herstellung von Milchsäuremethylester in Gegenwart eines sauren Ionenaustauschers 15 beschrieben, wobei der Ester durch fraktionierte Vakuumdestillation in 82 %iger Ausbeute erhalten wird.

Schwieriger wird die Reinigung der Ester, wenn man von einer verdünnten wässrigen Milchsäurelösung ausgeht, weil in Gegenwart von Wasser der Ester sehr leicht wieder gespalten werden kann. Gemäß der US-PS 2350370 wird zwar 20 verdünnte, wäßrige Milchsäure mit saurem Katalysator verestert, jedoch wird der abdestillierte Ester gleich wieder verseift, um auf diesem Wege Milchsäure zu reinigen.

Im DE-OS 3214697 wird ein Verfahren zur kontinuierlichen Reinigung von Milchsäuremethylestern vorgeschlagen, bei dem der durch säurekatalysierte 25 Veresterung einer verdünnten Milchsäure hergestellte Ester zuerst durch Teilkondensation des bei der Veresterung entstehenden Gasgemisches und einer anschließenden Vakuumdestillation angereichert, und der im Sumpf der 1. Trennkolonne verbliebene Rohmilchsäuremethylester, der im wesentlichen nur noch geringe Mengen an Milchsäure enthält, zur vollständigen Reinigung in eine zweite 30 Trennkolonne geleitet wird.

Wenngleich das "Veresterungs-Verfahren" die zur Zeit einzige brauchbare Methode zur Herstellung von Pharmakopöe-Milchsäure ist, weist sie doch den Nachteil auf, daß auch hier mit großen Mengen organischer Lösungsmittel gearbeitet werden muß, was ein erhebliches Sicherheits- und Umweltrisiko darstellen.

5 Es wurde daher verstärkt nach alternativen Verfahren gesucht, die die oben erwähnten Nachteile nicht aufweisen.

So sind eine Reihe von Patentschriften bekannt, bei denen die Abtrennung der org. Säuren durch Elektrodialyse vorgeschlagen wird. Im AT 290441 wird z.B. ein Verfahren zur Reinigung von Milchsäure vorgestellt, bei dem durch eine
10 Kombination von Elektrodialyse und Extraktion eine Milchsäure erhalten wird, die frei von "unangenehmen Geruch und Geschmack" sein soll. Bei diesem Verfahren wird eine auf ca. 20 % aufkonzentrierte Rohmilchsäurelösung einer Elektrodialysebehandlung unterzogen und die dialysierte Lösung anschließend mit einem org. Lösungsmittel (empfohlen wird Isopropyläther) extrahiert. Aus der org.
15 Phase wird die Milchsäure durch Rückextraktion mit Wasser gewonnen.

Im EP 0393818 wird ein Verfahren zur Reinigung von Milchsäure vorgeschlagen, bei dem das in der Fermentationsbrühe enthaltene Milchsäure-Salz (z.B. NH_4 -Lactat) zuerst durch konventionelle Elektrodialyse abgetrennt wird. Das so gewonnene Milchsäure-Salz wird anschließend in einen zweiten Elektrodialysator
20 geleitet, der mit bipolaren Membranen ausgestattet ist, und in dem durch Wasserspaltung das Milchsäure-Salz in die freie Säure und deren korrespondierende Base zerlegt wird. Letztlich wird die Milchsäurelösung, zur Entfernung der noch vorhandenen An- und Kationen, über ein stark basisches und eine stark saures Ionenaustauscher-Harz geleitet. Auf diese Weise soll eine hochgereinigte
25 Milchsäure erhalten werden.

Die mit Elektrodialyse arbeitenden Verfahren haben allerdings den Nachteil, daß sie einerseits große Mengen an elektrischer Energie benötigen, was das Verfahren sehr verteuert und andererseits zur Herstellung hochreiner Milchsäure noch weitere Reinigungsschritte, wie z.B. Ionenaustausch, erforderlich sind.

Ein ebenfalls alternatives Verfahren zur Gewinnung und/oder Reinigung fermentativ hergestellter Carbonsäuren ist das Ionenaustauschverfahren an sauren und/oder basischen Ionenaustauscher-Harzen.

So wird z.B. in DD-PS 203533 ein Ionenaustauschverfahren zur Gewinnung 5 von Carbon- und Oxycarbonsäuren aus deren fremdsalzhaltigen Lösungen beschrieben, bei dem die Salze zuerst über stark saure Kationenaustauscher in der H^+ -Form in Säuren umgewandelt werden. Dabei wird ein Gemisch aus Carbonsäuren und Fremdsäuren erhalten. Mit einer geringer konzentrierten Fraktion dieses Gemisches wird sodann ein vorerst in der Basen- oder Hydroxylform vorliegender 10 schwach basischer Anionenaustauscher beladen, also im wesentlichen in die Carbonsäureform überführt. Anschließend wird über den säurebeladenen Ionenaustauscher eine höher konzentrierte Fraktion des in der Entkationisierungsstufe erhaltenen Säuregemisches geleitet, wobei die zu gewinnende Säure das Harzbett ungehindert passiert und lediglich die stärkeren Fremdanionen (erwähnt ist Chlorid) 15 durch den Ionentausch an das Harz gebunden werden.

Im EP 0135728 wird ein Verfahren zur "Isolierung von enzymatisch erzeugten Carbonsäuren" beschrieben, bei dem die, vorteilhaft durch kontinuierlich Fermentation hergestellte Lösung über einen "Desorber" läuft, der mit einem "Polymerisat mit tertiären Aminogruppen" gefüllt ist, welcher selektiv Carbonsäuren 20 adsorbiert. Die aus dem "Desorber" austretende weitgehend carbonsäurefreie Flüssigkeit wird wieder in den Reaktor zurückgeführt. Nach Beladen eines "Desorbers" wird die Reaktionslösung auf den nächsten Desorber geführt und aus dem beladenen Desorber die Carbonsäure mit Hilfe eines polaren Lösungsmittel, z.B. mit Methanol, eluiert. Die Abtrennung der Carbonsäure aus dem Eluat erfolgt 25 nach bekannten Methoden; im Falle flüchtiger Elutionsmittel z.B. durch Destillation.

Weitere Verfahren zur Abtrennung von Milchsäure durch Ionenaustausch werden im US-PS 3202705 und im JP 91183487 vorgeschlagen. Bei diesen Verfahren wird die mit Schwefeläure angesäuerte Fermentationsbrühe nach Abtrennung des ausfallenden $CaSO_4$ zuerst über einen stark sauren 30 Kationenaustauscher in der H^+ -Form und anschließend über einen basischen

Anionenaustauscher geleitet. Auf diese Weise soll, zumindest im Falle des US-Patens, eine "farbstabile" Milchsäure erhalten werden.

Der große Nachteil aller Verfahren, bei denen ein "echter" Ionenaustausch stattfindet, ist die erforderliche, teure Regeneration der Harze.

- 5 Als jüngste alternative Verfahren zur Gewinnung und Reinigung org. Säuren werden deshalb Chromatographieverfahren an basischen Anionenaustauschern beschrieben.

So wird im EP 0324210 ein Reinigungsverfahren vorgestellt, bei dem eine fermentativ hergestellte Zitronensäure durch Adsorption an neutrale, nichtionogene,
10 makroretikuläre, wasserunlösliche Harze bzw. an schwach oder stark basischen Anionenaustauschern, gereinigt wird. Als Eluens wird Wasser, eine Wasser-Acetonmischung oder eine verdünnte Schwefelsäurelösung verwendet. Dieses Verfahren ist in der Lage, Salze und Kohlenhydrate von der Zitronensäure abzutrennen.

- 15 Nach genau dem selben Prinzip arbeitet das im EP-OS 0377430 vorgeschlagene Verfahren. Bei diesem werden zur chromatographischen Isolierung und/oder Reinigung von Säuren ebenfalls basische Ionenaustauscher vorgeschlagen. Der Unterschied zum EP 0 324 210 besteht vor allem darin, daß nicht nur Zitronensäure, sondern auch andere anorganische (z.B. Phosphorsäure) und organische (z.B.
20 Weinsäure, Äpfelsäure oder Milchsäure) Säuren auf diese Weise getrennt und/oder gereinigt werden können.

- Alle IAC-Methoden, die basische Anionenaustauscher oder nichtionogenen Adsorberharze verwenden, haben allerdings den großen Nachteil, daß die auf den Harz adsorptiv zurückgehaltenen Säuren bei ihrer Elution mit Wasser oder verd.
25 Schwefelsäure ein starkes "Tailing" aufweisen, was zu einer starken Verdünnung der eluierten Säure führt. Darüber hinaus ist es mit dieser Methode nicht möglich, Säuren mit ähnlichen pKs-Werten, wie z.B. Milchsäure und Essigsäure voneinander zu trennen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Milchsäure aus salz- und kohlenhydrathaltigen Substraten (Fermentationsmaischen) auf einfache Weise und zuverlässig zu gewinnen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß der Abtrennungs- und Reinigungsprozeß in zwei Schritten vorgenommen wird, wobei

- a) im ersten Schritt, in einer oder mehreren "Vorsäulen", die in der Fermentationslösung gegebenenfalls vorhandenen Salze, vor allem das Salz der Milchsäure, durch einen echten Ionenaustausch in die freien Säuren umgewandelt werden und
- 10 b) im zweiten Schritt, in einer oder mehrerer "Trennsäulen", die freie Milchsäure durch Chromatographie an stark sauren Ionenaustauschern von den übrigen in der Fermentationslösung vorhandenen Säuren, Kohlenhydraten und sonstigen Verunreinigungen getrennt wird.

Durch dieses Verfahren ergeben sich folgende Vorteile:

- 15 - Die Fermentationsmaische muß zur Freisetzung der Milchsäure nicht mit einer starken Mineralsäure versetzt werden, was die Salzfracht der Maische erheblich verringert. Der Vorteil gegenüber den Verfahren, bei denen die Milchsäure durch klassischen Ionenaustausch aus der meist angesäuerten Brühe mit Hilfe stark saurer Kationenaustauscher abgetrennt wird, liegt vor allem darin, daß zur Regeneration
- 20 eines schwach sauren Ionenaustauscher um etwa 2/3 weniger Mineralsäure benötigt wird.

- Der Vorteil gegenüber den IAC-Verfahren mit basischen Anionenaustauschern besteht darin, daß die Milchsäurefraktion als scharfer, symmetrischer Peak ohne "Tailing" erhalten wird.

- 25 - Weiters ist am stark sauren Ionenaustauscher auch die Trennung der Milchsäure von anderen vorhandenen, organischen Säuren, insbesondere der Essigsäure, möglich. Dadurch kann Milchsäure von pharmazeutischer Qualität und ausreichender Farbstabilität erhalten werden, so daß sie auch für Polymerisationszwecke eingesetzt werden kann.

- Als Elutionsmittel kann beim gegenständlichen Verfahren reines Wasser benutzt werden, im Gegensatz zu den IAC-Verfahren mit basischen Austauschern, die verdünnte Säuren zur Elution benötigen.

Die Fermentationslösung, aus welcher die Milchsäure abgetrennt werden soll, 5 muß einen pH-Wert über 5,0 aufweisen und somit noch im Arbeitsbereich schwach saurer Kationenaustauscher liegen.

Das in einer oder in mehreren "Vorsäulen" befindliche Harz ist ein Kationenaustauscher, vorzugsweise ein schwach saurer Kationenaustauscher in der H^+ -Form, da bei diesem die Regeneration in die H^+ -Form praktisch mit der 10 theoretischen Säuremenge möglich ist (Fig. 7).

Die Temperatur der "Vorsäule" soll mindestens $50^{\circ}C$, vorzugsweise jedoch $70^{\circ} - 80^{\circ}C$ betragen, weil dadurch die Acedität und somit auch das Salzspaltungsvermögen schwach saurer Kationenaustauscher erhöht und die nutzbare Kapazität (Durchbruchskapazität) des Austauschers wesentlich verbessert wird.

15 Der in einer oder in mehreren "Trennsäulen" befindliche stark saure Kationenaustauscher liegt in der H^+ -Form vor, wodurch eine chromatographische Trennung der Milchsäure auch von anderen organischen Säuren, insbesondere der Essigsäure, möglich ist.

Die entkationisierte Fermentationslösung wird durch den Kontakt am stark 20 sauren Kationenaustauscher in eine, die nichtmilchsäurehaltigen Bestandteile enthaltende Raffinatfraktion I (Vorlauf), eine milchsäurehaltige Produktfraktion und eine vornehmlich essigsäurehaltige Raffinatfraktion II (Nachlauf) aufgetrennt.

Als Elutionsmittel zum Herauswaschen der einzelnen Fraktionen aus den Trennsäulen wird reines, vorzugsweise entionisiertes Wasser verwendet.

25 Die Elutionstemperatur liegt zwischen der Raumtemperatur und der Stabilitätsgrenztemperatur der verwendeten Harze, vorzugsweise bei $50^{\circ}-65^{\circ}C$, wodurch einerseits eine mikrobielle Infektion verhindert und andererseits die Anzahl der theoretischen Böden erhöht wird.

Es wird nur der in den "Vorsäulen" befindliche schwach saure 30 Kationenaustauscher nach seiner vollkommenen Beladung mit den Kationen der

Fermentationslösung mit einer verdünnten starken Mineralsäure, vorzugsweise mit einer 1 - 2 n Schwefelsäure regeneriert.

Die bei der Regeneration der Harze in den Vorsäulen anfallende verdünnte Salzlösung wird durch salzspaltende Elektrodialyse in die korrespondierenden Säuren 5 und Basen gespalten und wieder in den Prozeß zurückgeführt.

Im einzelnen gestaltet sich die Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens in der Weise, daß eine bevorzugt durch Verwendung von Ammoniumwasser als Neutralisationsmittel, durch Fermentation mit *Lactobacillus delbrückii* hergestellte Milchsäuremaische von grobdispersen Bestandteilen 10 (Biomasse) befreit wird. Das geschieht zum Beispiel durch Zentrifugation mit einer Vollmantelzentrifuge. Zur Entfernung von Farbstoffen und lipophilen Bestandteile kann die Fermentationslösung mit Aktivkohle versetzt werden. Nach einer Kontaktzeit wird letztere in der üblichen Weise durch Filtration entfernt. Die Maische wird gegebenenfalls auf 30-50 % (G/G) durch Vakuumverdampfung 15 aufkonzentriert und stellt die im folgendem als "Feed" bezeichnete Lösung dar.

Der eigentliche, erfindungsgemäße Reinigungs- und Trennprozeß der Milchsäure erfolgt in zwei Schritten:

- 1) durch einen echten Ionenaustausch an einem bevorzugt schwach sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form, und
- 20 2) durch einen IA-Chromatographieprozeß an einem stark sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form.

Der Prozeß beginnt damit, daß eine bestimmtes Volumen der Fermentationslösung ("Feed") auf die "Vorsäule" aufgebracht wird. Die pro Chromatographiezyklus aufzubringende Menge an "Feed"-Lösung hängt einerseits 25 von deren Konzentration sowie andererseits vom Durchmesser der "Trennsäulen" ab. Sie wird aber im allgemeinen zwischen 5 - 10 % des Harz-Bettvolumen der "Trennsäule" betragen.

Ist die "Feed"-Lösung zur Gänze in die "Vorsäule" eingedrungen, wird sofort auf reines, vorzugsweise entionisiertes Wasser umgeschalten, welches als 30 Elutionsmittel in diesem Prozeß verwendet wird.

In der "Vorsäule" befindet sich ein bevorzugt schwach saurer Kationenaustauscher in der H^+ -Form, durch welchen die in der "Feed"-Lösung enthaltenen Salze, vor allem das Salz der Milchsäure (NH_4 -Lactat), durch Ionenaustausch in die entsprechenden Säuren umgewandelt werden. Das 5 Harz-Bettvolumen der "Vorsäule" muß nur so groß sein, daß bei den gegebenen Betriebsbedingungen die sog. "Durchbruchskapazität" des in der Vorsäule verwendeten Harzes ausreicht, die pro Chromatographiezyklus aufgebrauchte Menge an Kationen gegen H^+ -Ionen auszutauschen. Da die "Durchbruchskapazität" schwach saurer Austauscher, neben den pH der "Feed"-Lösung vor allem von der 10 Betriebstemperatur abhängt, ist es vorteilhaft, den Ionenaustausch-Prozeß in der "Vorsäule" bei mindestens $50^\circ C$, bevorzugt jedoch bei $70 - 80^\circ C$ ablaufen zu lassen.

Die von der "Vorsäule" kommende, entkationisierte "Feed"-Lösung wird dann mit Hilfe einer Pumpe direkt auf die "Trennsäule" befördert, die mit einem stark 15 sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form gefüllt ist. Mit der Pumpe wird auch die für den Chromatographie-Prozeß erforderliche, optimale Durchflußgeschwindigkeit konstant gehalten. In der "Trennsäule" findet der eigentliche IAC-Prozeß statt, der zur Trennung der Milchsäure von den übrigen, in der "Feed"-Lösung vorhandenen Komponenten führt. Der aus der "Trennsäule" ausfließende Eluatstrom kann in drei 20 Fraktionen geteilt werden:

- *) in die Raffinatfraktion I, (Vorlauf) welche die nichtmilchsäure Komponenten der "Feed"-Lösung enthält (Kohlenhydrate, starke Säuren, Proteine)

- *) in die Produktfraktion, welche die freie Milchsäure enthält und

- *) in die Raffinatfraktion II, (Nachlauf) welche in erster Linie Essigsäure 25 enthält.

Der IAC-Prozeß in den "Trennsäulen" findet vorzugsweise bei einer Temperatur von $50^\circ - 65^\circ C$ statt. Dadurch wird einerseits eine mikrobielle Infektionen des Harzes verhindert und andererseits die Anzahl der theoretischen Böden erhöht.

Der in der "Vorsäule" befindliche, schwach saure Kationenaustauscher wird nach seiner Beladung mit den Kationen der "Feed"-Lösung, mit einer starken Mineralsäure (z.B. mit einer 1 - 2 n Schwefelsäure), im Gegenstromverfahren, regeneriert. Die bei der Regeneration der "Vorsäule" anfallende, verdünnte 5 Salzlösung, die zum überwiegenden Teil aus Ammoniumsulfat besteht, kann durch salzspaltende Elektrodialyse in die korrespondierenden Säuren (Schwefelsäure) und Basen (Ammoniumhydroxid) zerlegt und wieder in den Prozeß zurückgeführt werden.

Wie bereits oben erwähnt, muß während der Fermentation der Milchsäure, der 10 für den Mikroorganismus optimale pH-Wert konstant gehalten werden, um eine befriedigende Produktivität zu erreichen. Dies geschieht in einfacher Weise dadurch, daß der Maische während der Fermentation ein Neutralisationsmittel, wie z.B. NH_4OH , zugegeben wird, wodurch der pH-Wert der Lösung auf 5,5 - 6,5 konstant gehalten werden kann. Die aus der Fermentation kommende Maische enthält also, 15 neben geringen Mengen von aus dem Nährmedium stammenden Salzen, Kohlenhydrate und anderen Verunreinigungen, als Hauptkomponente das Salz der Milchsäure, also z.B. das NH_4 -Lactat.

Bei der chromatographischen Trennung von Mehrkomponenten-Systemen, wie der oben beschriebenen Milchsäuremaische, kommen mehrere Effekte zum Tragen.

20 Als Erster dieser Effekte wäre der von WHEATON und BAUMANN (1953) beschriebene "Ionenausschlußeffekt" zu nennen. (Ing. Eng. Chem.; 45 (1953) 228) Er ermöglicht die Trennung ionischer von nichtionischen Komponenten. Im Gegensatz zum herkömmlichen Ionenaustauschverfahren findet hier kein Ionenaustausch statt, wodurch auch keine Regeneration des Harzes erforderlich wird. 25 Theoretisch kann der Ionenausschlußeffekt durch die "Donnan-Membrantheorie" erklärt und beschrieben werden. (MEYER, W.R.S. et al.; Ind. Eng. Chem. Proc. Des. Develop; 6 (1967) 55). Wird z.B. eine Salzlösung K^+A^- mit einem Kationenaustauscherharz, welches vorher mit dem Kation K^+ abgesättigt wurde, zusammengebracht, so nimmt das Harz eine negative Ladung gegenüber der Lösung 30 an. Diese negative Ladung ist das Ergebnis einer geringfügigen Wanderung des

Anions A^- in das Harz und einer ähnlichen Wanderung des Kations K^+ in das Harz-Zwischenraumvolumen. Es bildet sich eine Potentialdifferenz zwischen Lösung und Harzphase aus. Die Größe dieser Potentialdifferenz kann durch das Donnanmembranpotential beschrieben werden.

5 Für die praktische Anwendung bedeutet dies, daß gelöste Salze, die als Kation dasselbe Ion enthalten wie das Gegenion des Harzes, nicht in das Harz eindringen können und als erste Komponente die Säule wieder verlassen. Dasselbe Prinzip gilt auch für Säuren wenn sie an einem stark sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form getrennt werden sollen. Bei Säuren spielt allerdings noch der pKs-Wert der 10 betreffenden Säure eine Rolle. Je niedriger der pKs der Säure (also je stärker die Säure) ist, um so weniger wird die Säure vom Harz zurückgehalten, und umgekehrt. Dies bedeutet, daß starke Säuren auf grund des Donnan-Ausschlusses nicht in die Harzporen eindringen können, während mittelstarke und schwache Säuren, je nach ihrem Dissoziationsgrad, mehr oder weniger weit in die Harzporen eindringen 15 können und daher erst später die Säule wieder verlassen werden.

Ein weitere Effekt der bei der IA-Cromatographie zum Tragen kommt, ist der sog. "Molekularsiebeffekt" der für die Auftrennung ungeladener (nichtionischer) gelöster Komponenten verantwortlich ist. (WALTER, H.G. et al.; Cer. Sci. Today; 15 (1970) 140) Die Porengröße eines Ionenaustauscherharzes wird durch seinen 20 Vernetzungsgrad bestimmt. Ob nun ein Molekül beim Durchwandern einer Ionenaustauschersäule aus dem Zwischenraum- in das Porenvolumen gelangen kann, hängt von seiner Größe und Form bzw. eben von der Porengröße des Harzes ab. Der Ionenaustauscher wirkt wie ein Molekularsieb, welches Moleküle einer bestimmten Form und Größe aus dem Porenvolumen ausschließt. (NORMANN, L.G.; J.Amer. 25 Soc. Sugar Beet Tech.; 12 (1963) 363) Jene Komponenten, die nicht in die Poren gelangen können, werden beim Eluieren der Säule früher im Eluat erscheinen als jene, die sich gleichmäßig verteilen.

Ein Maß dafür, wie stark eine Substanz von dem betreffenden Harz zurückgehalten wird, ist durch den sog. "Verteilungskoeffizienten" (K_d) gegeben. Er 30 ist definiert als das Verhältnis der Konzentrationen des gelösten Stoffes (i) im

Harzporenvolumen (C_{hi}) zur Konzentration des gelösten Stoffes (i) im Zwischenraumvolumen (C_{zi}):

$$K_{di} = C_{hi}/C_{zi}$$

Ganz allgemein hängt der Verteilungskoeffizient für eine bestimmte
5 Verbindung von der Struktur dieser Verbindung und deren Konzentration, vom Typ und der ionischen Form des Harzes und schließlich auch von den anderen, in der Lösung vorhandenen Verbindungen ab.

Die chromatographische Abtrennung der Milchsäure aus einer Lösung die neben ionischen (Salze) auch nichtionische (Kohlenhydrate) Komponenten enthält,
10 gelingt an einem stark sauren Kationenaustauscher durch das Zusammenwirken der beiden beschriebenen Effekte. Eine Voraussetzung dafür ist allerdings, daß es während des Chromatographieprozesses zu keiner Umladung des Harzes kommt, d.h. daß das Gegenion des Kationenaustauschers dasselbe sein muß, wie das mengenmäßig am stärksten vorhandene Kation der Lösung. Dieses wäre z.B. im
15 Falle einer Neutralisation der Maische mit NH_4OH das NH_4^+ -Ion.

Rein theoretisch müßte also auf einem stark sauren Kationenaustauscher in der NH_4^+ -Form eine chromatographische Trennung des NH_4 -Lactats von den übrigen Komponenten der Maische möglich sein. Wie Versuche aber gezeigt haben, ist mit einem Kationenaustauscher in dieser Beladungsform eine Abtrennung des
20 Milchsäuresalzes nicht oder nur sehr schwer möglich, da im Sinne des oben gesagten sich bei dieser Harzform die Verteilungskoeffizienten der einzelnen Komponenten zu wenig unterscheiden (Beispiel 1, Fig. 1).

Außerdem würde bei einem derartigen Prozeß nicht die freie Säure, sondern natürlich das Salz der Milchsäure, also das NH_4 -Lactat erhalten werden, welches in
25 einen weiteren Schritt erst zur freien Säure umgewandelt werden müßte.

Führt man hingegen den IAC-Prozeß auf einem stark sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form mit einer Maische durch, deren pH-Wert mit einer starken Mineralsäure (z.B. mit einer konz. H_2SO_4) auf 2,5 gesenkt wurde, ergibt sich ein ganz anderes Chromatogramm. Durch das Ansäuern der Maische
30 werden die Säuren aus ihren Salzen gedrängt. In einer derartigen Lösung sind neben

freier Milchsäure vor allem $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ und Schwefelsäure als Hauptkomponenten zu finden. Bei der chromatographischen Auftrennung dieser Lösung wird das mit dem "Feed" in das Trennharz eintretende Ammoniumsulfat zu einer teilweisen Umladung des Harzes führen. Die dabei entstehende Schwefelsäure wird mit der ohnedies im "Feed" vorhandenen Schwefelsäure, entsprechend dem "Ionenausschlußeffekt" die Trennsäule am schnellsten durchwandern und diese auch als erste Komponente verlassen. Die um vieles schwächer dissoziierte Milchsäure ($\text{pKs } 3,86$) wird hingegen langsamer durch die Trennsäule wandern und, ihrer Stärke entsprechend, einen Teil des zuerst in die NH_4^+ -Form umgeladenen Harzes wieder in die H^+ -Form zurückführen. Im Chromatogramm erscheint die Milchsäure als Doppelpeak, wobei der erste Peak das NH_4 -Lactat und der zweite die freie Milchsäure darstellt (Beispiel 2, Fig. 2).

Der Doppelpeak, also die Aufteilung der im "Feed" vorhandenen Milchsäure in eine Salz- und eine Säurefraktion, kann jedoch vermieden werden, wenn nach dem Aufgeben der auf pH 2,5 angesäuerten "Feed"-Lösung, gleich oder in einem bestimmten Abstand, mit einer bestimmten Menge einer vorzugsweise 2 n H_2SO_4 nachgefahren wird. Die Menge der Schwefelsäure mit der nachgefahren werden muß, richtet sich nach der NH_4 -Ionenkonzentration der "Feed"-Lösung. Nach der Schwefelsäure-Aufgabe wird wie üblich mit entionisiertem Wasser eluiert. Im Chromatogramm erscheint die freie Milchsäure als scharfer Einzelpeak. Der Grund dafür ist wieder in der Tatsache zu sehen, daß die starke Schwefelsäure um vieles schneller durch das Trennharz wandert als die schwächere Milchsäure oder gar als die noch schwächere Essigsäure. Die der "Feed"-Lösung nachgeschickte Schwefelsäure wird sozusagen die Milchsäure und anderen schwachen Säuren "überholen" und die vom Ammoniumsulfat verursachte Umladung des Harzes in die NH_4^+ -Form wieder rückgängig machen (Beispiel 3, Fig. 3).

Bei diesem Prozeß findet also bereits eine Kombination von Ionenaustausch und IA-Chromatographie statt, wenngleich auf derselben Säule und am selben Harz.

Die Verdrängung der Milchsäure aus ihrem Salz kann aber auch direkt durch Ionenaustausch auf dem Trennharz erfolgen. Wird als "Feed" eine nicht angesäuerte

Maische (pH 5.8) auf einen stark sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form aufgebracht und in der selben Weise wie oben geschildert mit einer bestimmten Menge Schwefelsäure nachgefahren und mit entionisierten Wasser eluiert, so ergibt sich das selbe Chromatogramm (Beispiel 4, Fig. 4).

5 Das oben geschilderte Verfahren, bei dem die beiden Prozesse "Ionenaustausch" und "IA-Chromatographie" auf ein und dem selben Harz, einem stark sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form stattfinden, hat jedoch einen entscheidenden Nachteil. Dieser besteht darin, daß die in der Praxis mögliche Menge an Schwefelsäure, mit der der "Feed"-Lösung nachgefahren werden muß, nicht
10 ausreicht um den Kationenaustauscher vollständig zu regenerieren. Es bleibt bei jedem Zyklus eine bestimmte Menge an NH_4 -Ionen am Austauscher zurück, was bedeutet, daß nach einer bestimmten Anzahl von IAC-Zyklen der Austauscher vollständig regeneriert werden muß.

Dieser Nachteil kann auf einfache Weise dadurch beseitigt werden, indem man
15 die beiden Prozesse, "Ionenaustausch" und "IA-Chromatographie", voneinander getrennt ablaufen läßt. Dazu ist es notwendig, der "Trennsäule" die mit dem stark sauren Kationenaustauscher in der H^+ -Form gefüllt ist, und in der nur noch der IAC-Prozeß stattfinden soll, eine "Vorsäule" vorzuschalten, in der durch Ionenaustausch die Kationen der "Feed"-Lösung gegen H^+ -Ionen ausgetauscht
20 werden. Diese "Vorsäule" wird daher ebenfalls mit einem Kationenaustauscher in der H^+ -Form gefüllt; dieser kann sowohl stark als auch schwach saurer Natur sein. Da der pH-Wert der Fermentationsmaische jedoch über 5, und somit noch im Arbeitsbereich schwach saurer Kationenaustauscher liegt bzw. ihre Acidität ausreicht um zumindest das Salz einer schwachen Säure (Milchsäure) zu spalten, ist es beim
25 erfindungsgemäßen Verfahren von Vorteil, in der "Vorsäule" schwach saure Kationenaustauscher zu verwenden. Das Harz-Bettvolumen der "Vorsäule" hängt einerseits von der pro Chromatographiezyklus aufgetragenen "Feed"-Menge und andererseits von der "Durchbruchskapazität" des Harzes ab. Wenngleich schwach saure Kationenaustauscher eine sehr hohe Totalkapazität (bis zu 4 val/l Harz)
30 aufweisen, wird ihre nutzbare Kapazität (Durchbruchskapazität) durch die

Betriebsbedingungen verringert werden. Den größten Einfluß auf die nutzbare Kapazität schwach saurer Kationenaustauscher hat, neben den pH-Wert der Lösung (soweit dieser unter 7 bzw. im Bereich zwischen 7 - 4 liegt), vorallem die Betriebstemperatur. So nimmt die Acidität und damit das Salzspaltungsvermögen des 5 Carbonsäureharzes auch gegenüber Neutralsalzen mit steigender Temperatur zunächst nur wenig, oberhalb von 50° C jedoch sehr stark zu. Es ist daher erforderlich, die "Vorsäule" bei einer möglichst hohen Temperatur, vorzugsweise bei 70 - 80 ° C zu betreiben (Beispiel 5 und 6, Fig. 5 und 6).

Wie den beiden Abb. 5 und 6 entnommen werden kann, ist bereits mit der in 10 der Versuchsanlage zur Verfügung stehenden Trennstrecke von ca. 800 cm, eine weitgehende Abtrennung der Milchsäure erreichbar. Mit den in der Praxis üblichen Trennstrecken von 15 - 20 m ist, nach dem Gesetz der "theoretischen Böden", jedoch eine vollkommene Abtrennung der Milchsäure zu erwarten. Vor allem gelingt es, die Kohlenhydrate vollkommen von der Milchsäure abzutrennen, wie der in Beispiel 15 5 gezeigte "Hitze"-Test beweist, bei dem es nach 1-stündiger Erhitzung der milchsäurehaltigen Fraktion auf 200° C zu keiner Verfärbung kam.

Ein entscheidender Vorteil schwach saurer Kationenaustauscher gegenüber stark sauren liegt in der hohen Chemikalienausnutzung bei der Regeneration. Wegen der niedrigen Dissoziationskonstante ist ihre Regeneration in die H⁺-Form praktisch 20 mit der theoretischen Säuremenge möglich (Beispiel 7 und 8, Fig. 7 und 8).

Das oben beschriebene Verfahren kann sowohl in batch-Fahrweise als auch in einer quasikontinuierlichen Apparatur, wie sie in der US-PS (1961) beschrieben ist, realisiert werden. Bei diesem, in dieser US-PS beschriebenen Chromatographie-Verfahren, wird die Stelle, bei der der "Feed"-Strom in das 25 Trennharz eintritt, und die Stelle, bei der der "Produkt"-Strom aus dem Trennharz austritt, ständig verändert. Durch diese Schaltvorgänge wird eine gegenläufige Bewegung des Harzes simuliert, weshalb dieses Verfahren in der Literatur als "simulated moving bed"-Prozeß bezeichnet wird. Eine mögliche Realisierung dieses Prozesses, unter Einbeziehung der für das erfindungsgemäße Verfahren 30 erforderlichen "Vorsäulen" wird in Fig. 9 dargestellt, die eine schematische

Darstellung einer halbkontinuierlichen Chromatographieanlage zur Gewinnung reiner Milchsäure, mit Vor- und Trennsäulen, nach dem Prinzip des "simulated moving bed"-Prozesses angeordnet und geschaltet, zeigt.

Im Prinzip läuft auf dieser Anlage der Trennungs- und Reinigungsprozeß genau 5 so ab wie oben geschildert, nur mit dem Unterschied, daß hier halbkontinuierlich gefahren werden kann. Auch hier wird auf eine der "Vorsäulen" eine bestimmte Menge "Feed" aufgebracht und mit Wasser nach unten gespült. Nach einer bestimmten Zeit wird auf die nächste "Vorsäule" eine weitere "Feed"-Menge aufgebracht und so ein kontinuierlicher "Feed"-Strom erzeugt. Das von der 10 "Vorsäule" kommende, entkationisierte "Feed" wird mit einer Pumpe (P) direkt auf eine bestimmte "Trennsäule" befördert, während das Harz in dieser "Vorsäule" mit Schwefelsäure regeneriert wird. Dieses zyklische Beladen und Regenerieren der "Vorsäulen" kann nun beliebig oft wiederholt werden.

Die "Trennsäulen" hingegen sind durch eine Rohrleitung zu einem Ring 15 verbunden. Diese Ringleitung ist zwischen den Säulen über Ventile an vier Versorgerleitungen angeschlossen. Diese Versorgerleitungen ermöglichen vier Prozeß-Ströme:

- *) den "Feed"-Einlaßstrom
- *) den "Eluent"-Einlaßstrom
- 20 *) den "Produkt"-Auslaßstrom, und
- *) den "Raffinat"-Auslaßstrom

Der Fluß in der Anlage wird durch eine eigene Pumpe konstant gehalten. In diesem Prozeß sind nun immer genau vier Ventile geöffnet und teilen den aus Säulen gebildeten Ring in vier Zonen:

25 Die erste Zone ist die sog. "Adsorptionszone" und liegt zwischen dem Punkt, an dem der "Feed"-Strom in die "Trennsäulen" eintritt und jenem, an dem die schneller laufenden Substanzen als "Raffinat"-Strom abgezogen werden.

Die zweite Zone ist die sog. "Reinigungszone" und liegt zwischen dem Punkt, an dem der "Raffinat"-Strom die "Trennsäulen" verläßt und jenem, an dem reines 30 Wasser als "Eluent"-Strom in die "Trennsäulen" eintritt.

Die dritte Zone ist die sog. "Desorptionszone" und liegt zwischen den Punkt, an dem der "Eluent"-Strom in die "Trennsäulen" eintritt und jenem, an dem die Milchsäure als "Produkt"-Strom abgezogen wird.

Die Essigsäure und andere langsam laufenden Komponenten (Raffinatfraktion 5 II), werden ebenfalls mit dem "Produkt"-Strom abgezogen, aber gesondert aufgefangen.

Die vierte Zone ist die sog. "Puffer-Zone" und liegt zwischen dem Punkt, an dem der "Produkt"-Strom die "Trennsäule" verläßt und jenem, an dem der "Feed"-Strom wieder in das Trennsystem eintritt.

10 Diese Zonen werden nun mit Hilfe eines Prozeßrechners nach vorgegeben Zeiten um eine Säule in Flußrichtung weiter geschaltet. Diese Schaltvorgänge simulieren einen Harzfluß gegen die Flußrichtung.

Der "simulated moving bed"-Prozeß hat gegenüber der batch-Fahrweise den Vorteil, daß für die Produktion derselben Menge an Milchsäure um etwa 1/3 weniger 15 Harz, und um etwa 2/3 weniger Eluent benötigt wird.

Die Erfindung wird im folgenden an Hand von Beispielen näher erläutert. Die dabei verwendeten Harze sind übliche Handelsprodukte. Ihre, vom Hersteller angegebenen allgemeinen Eigenschaften sind in Tabelle 1 zusammengefaßt:!

20

Tabelle 1

25

Merkmal	Harz der Vorsäulen		Harz der Trennsäulen
	Dowex MWC-1	Lewatit MDS 1368	Dowex Mono C 356 CA
Hersteller	Dow Chemical	Bayer	Dow Chemical
Harz-Typ	schwach sauer	stark sauer	stark sauer
Polymer-Basis	Polyacrly	Styrol/DVB	Styrol/DVB
	makroporös	gelförmig	gelförmig
Funktionelle Gruppe	Carboxyl-	Sulfonsäure	Sulfonsäure
Korngröße	0,4-1,2 mm	0,35 mm ±0,05	0,35 mm ±0,05
Feuchtegehalt	44-50 Gew. %	ca. 49 Gew. %	57-61 Gew. %
Schüttdichte	720 g/l	830 g/l	833 g/l
Totalkapazität	3,8 val/l	1,8 val/l	1,5 val/l
max. Betriebstemp.	100° C	100° C	90° C
pH-Arbeitsbereich	5-14	1-14	1-14

30

Die bei allen IAC-Versuchen verwendete "Feed"-Lösung war eine durch Fermentation mit *Lactobacillus delbrückii* hergestellte Milchsäuremaische. Als Neutralisationsmittel wurde NH_4OH verwendet, sodaß in der Maische die Milchsäure als Ammonium-Lactat vorlag. Nach Abtrennen der Biomasse mit einer Kammerzentrifuge wurde die Maische durch Vakuumverdampfung auf ca. 30 Gew.-Vol.-% aufkonzentriert und anschließend durch Zugabe von Aktivkohle entfärbt. Bei einem Teil der so hergestellten Maische wurde noch der pH-Wert durch Zugabe von konz. Schwefelsäure auf 2,5 gesenkt, und damit die Milchsäure aus ihrem Salz gedrängt.

- 10 Die auf diese Weise erhaltenen hellgelben Lösungen werden in den folgenden Beispielen mit "Feed"-Lösung 1 (pH 5,8) und "Feed"-Lösung 2 (pH 2,5) bezeichnet.

Die mit der HPLC (Shimadzu Co.) ermittelte Zusammensetzung dieser Lösungen wird in Tabelle 2 dargestellt.

15

Tabelle 2 Analytische Charakterisierung der Fermentationslösung mit der HPLC		
Substanz	Feed-Lösung 1 Ferm. Lösung bei pH 5,8	Feed-Lösung 2 Ferm. Lösung bei pH 2,5
Sulfate	5,12 g/l	124,20 g/l
Oxalsäure	1,07 g/l	0,97 g/l
Maltose	4,68 g/l	4,25 g/l
Glucose	1,99 g/l	1,79 g/l
Mannit	4,64 g/l	4,22 g/l
unbe.Substanz A	2,91 g/l	2,62 g/l
unbe.Substanz B	2,28 g/l	2,05 g/l
Milchsäure	303,93 g/l	268,40 g/l
Essigsäure	2,80 g/l	2,52 g/l

20

25 Beispiel 1:

Eine Chromatographie-Versuchsanlage, bestehend aus zwei hintereinander geschalteten Doppelmantelsäulen aus Acrylglas, wurden mit dem stark sauren Kationenaustauscher DOWEX Mono C 356 CA gefüllt. Der Durchmesser der Innensäule betrug 2,0 cm und die Länge jeder Säule 200 cm. Bei einer Harzбетhöhe 30 von 365 cm ergab sich daraus ein Harz-Bettvolumen von 1150 cm³.

Nachdem die Säulen mit dem Harz gefüllt waren, wurden sie zuerst mit einer 2 n HCl in die H^+ -Form gebracht und anschließend mit einem ca. 5 % Ammoniumwasser in die NH_4^+ -Form umgeladen. Sämtliche bei dem Versuch auf die Säule aufgegebenen Flüssigkeitsvolumina wurden vorher entgast und auf die 5 Säulentemperatur vorgewärmt. Diese betrug $55^\circ C$ und wurde mit Umwälzthermostaten konstant gehalten.

Nach Aufgabe von 100 ml "Feed"-Lösung 1 auf die erste Säule wurde mit entgastem, entionisiertem Wasser, welches auf ca. $60^\circ C$ vorgewärmt war, eluiert. Die Durchflußrate von 6 ml/min ($1,91 \text{ ml/min} \cdot \text{cm}^2$) wurde mit einer 10 Schlauchquetschpumpe eingestellt und konstant gehalten. Das aus der ersten Säule unten austretende Eluat wurde unmittelbar auf die zweite Säule weitergepumpt. Das Eluat der zweiten Säule wurde durch eine Leitfähigkeitsmeßzelle geleitet und anschließend in einem Fraktionskollektor gesammelt. Das von der Leitfähigkeitsmeßzelle kommende Signal wurde von einem Schreiber in Form eines 15 Leitfähigkeits-Chromatogramms aufgezeichnet. Es diente nur zur groben Detektion, da mit der Leitfähigkeit nur die Lage der Salze und Säuren erkannt werden kann.

Die genauere Untersuchung der gesammelten Fraktionen wurde mit der HPLC vorgenommen. Damit konnten nicht nur die Säuren und Salze, sondern auch die Kohlenhydrate quantitativ erfaßt werden.

20 Die mit der HPLC ermittelten Konzentrationen der einzelnen Substanzen wurde gegen das Eluatvolumen aufgetragen und ergab das in Fig. 1 dargestellte Chromatogramm.

Beispiel 2:

25 Beispiel 1 wurde wiederholt mit dem Unterschied, daß der stark saure Kationenaustauscher mit einer 2 n Schwefelsäure in die H^+ -Form übergeführt und auf das Harz 100 ml der "Feed"-Lösung 2 aufgebracht wurde. Das Chromatogramm dieser Trennung wird in Fig. 2 dargestellt.

Beispiel 3:

Beispiel 2 wurde wiederholt mit dem Unterschied, daß die Chromatographieanlage um zwei weitere Säulen vergrößert wurde, wodurch sich bei
5 eine Harzbethöhe von 730 cm ein Harzbettvolumen von ca. 2300 cm³ ergab. Auf
das Harz wurden bei diesem Versuch nur 60 ml der "Feed"-Lösung 2 aufgegeben.
Die Elution erfolgte nun so, daß nachdem die "Feed"-Lösung mit 40 ml Wasser in
das Harzbett gespült war, mit 180 ml einer 2 n H₂SO₄ nachgefahren wurde.
Anschließend wurde wieder auf Wasser umgeschaltet und wie in Beispiel 1
10 beschrieben, die Elution zu Ende geführt. Das Chromatogramm dieser Trennung
wird in Fig. 3 dargestellt.

Beispiel 4:

Beispiel 3 wurde wiederholt mit dem Unterschied, daß auf das Harz 60 ml der
"Feed-Lösung 1 aufgetragen wurden. Das Chromatogramm dieser Trennung wird in
15 Fig. 4 dargestellt.

Beispiel 5:

Beispiel 4 wurde wiederholt mit dem Unterschied, daß die Chromatographie-Anlage um eine "Vorsäule" erweitert wurde. Diese "Vorsäule"
20 hatte, bei einem Durchmesser von 2,5 cm und einer Harzbethöhe von 80 cm, ein
Harzbettvolumen von ca. 400 cm³. Die "Vorsäule" wurde mit dem schwach sauren
Kationenaustauscher Dowex MWC-1 gefüllt und mit einer 1 n H₂SO₄ in die
H⁺-Form gebracht. In der "Vorsäule" wurde mit einem Umwälzthermostaten eine
Temperatur von 75° C aufrecht erhalten. Auf die "Vorsäule" wurden dann 60 ml
25 "Feed"-Lösung 1 aufgetragen und mit vorgewärmten (70° C), entionisiertem Wasser
mit einer Durchflußrate von 9 ml/min (2,8 ml/min*cm²) eluiert. Das
Chromatogramm dieser Trennung wird in Fig. 5 dargestellt.

Die Milchsäurefraktion wurde dem sog. "Hitze"-Test unterworfen. Dabei
wurde eine Probe dieser Fraktion in einem druckfesten verschließbaren Röhrchen, im

Glycerinbad einer 1-stündigen Erhitzung von 200° C ausgesetzt. Die Extinktion vor und nach der Erhitzung wurde bei 420 nm (Schichtdicke 1 cm) bestimmt.

5

Tabelle 3	
Merkmal	Extinktion
"Feed"-Lösung 1	0,412
Probe von der Erhitzung	0,006
Probe nach der Erhitzung	0,014

Beispiel 6:

10 Beispiel 5 wurde wiederholt mit dem Unterschied, daß die "Vorsäule" mit dem stark sauren Kationenaustauscher Lewatit MDS 1368 gefüllt und mit einer 2 n H₂SO₄ in die H⁺-Form gebracht wurde. Das Chromatogramm dieser Trennung wird in Fig. 6 dargestellt.

15 Beispiel 7:

Der in Beispiel 5 mit NH₄⁺-Ionen beladene, schwach saure Kationenaustauscher Dowex MWC-1 in der "Vorsäule" wurde mit einer 1 n H₂SO₄ regeneriert. Die aus der "Vorsäule" austretende Lösung lief durch eine Leitfähigkeitsmeßzell und wurde anschließend in einem Fraktionskollektor
20 aufgefangen. Die Konzentration des Ammoniumsulfats in den einzelnen Fraktionen wurde durch Zugabe von konz. NaOH, und anschließender Wasserdampfdestillation mit der Büchi "Destillier-Einheit", bestimmt. Das Ergebnis dieses Versuches ist in Fig. 7 dargestellt.

25 Beispiel 8:

Beispiel 7 wurde wiederholt mit dem Unterschied, daß der in Beispiel 6 mit NH₄⁺-Ionen beladene stark saure Kationenaustauscher Lewatit MDS 1368 in der "Vorsäule" mit einer 1 n H₂SO₄ regeneriert wurde. Das Ergebnis dieses Versuches ist in Fig. 8 dargestellt.

30

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus salz- und kohlenhydrathaltigen, von grobdispersen und lipophilen Verunreinigungen befreiten 5 Substraten (Fermentationslösung) dadurch gekennzeichnet, daß der Abtrennungs- und Reinigungsprozeß in zwei Schritten vorgenommen wird, wobei

a) im ersten Schritt, in einer oder mehreren "Vorsäulen", die in der Fermentationslösung gegebenenfalls vorhandenen Salze, vor allem das Salz der Milchsäure, durch einen echten Ionenaustausch in die freien Säuren umgewandelt 10 werden und

b) im zweiten Schritt, in einer oder mehrerer "Trennsäulen", die freie Milchsäure durch Chromatographie an stark sauren Ionenaustauschern von den übrigen in der Fermentationslösung vorhandenen Säuren, Kohlenhydraten und sonstigen Verunreinigungen getrennt wird.

15 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Fermentationslösung, aus welcher die Milchsäure abgetrennt wird, einen pH-Wert über 5,0 aufweist.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das in einer oder in mehreren "Vorsäulen" befindliche Harz ein Kationenaustauscher, vorzugsweise 20 ein schwach saurer Kationenaustauscher in der H^+ -Form ist.

4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Temperatur der "Vorsäule" mindestens $50^{\circ} C$, vorzugsweise jedoch eine Temperatur von $70^{\circ} - 80^{\circ} C$ beträgt.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der in einer oder 25 in mehreren "Trennsäulen" befindliche stark saure Kationenaustauscher in der H^+ -Form vorliegt.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die entkationisierte Fermentationslösung durch den Kontakt am stark sauren Kationenaustauscher in eine, die nichtmilchsäurehaltigen Bestandteile enthaltene

Raffinatfraktion I (Vorlauf), eine milchsäurehaltige Produktfraktion und eine vornehmlich essigsäurehaltige Raffinatfraktion II (Nachlauf) aufgetrennt wird.

7. Verfahren nach einen der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß als Elutionsmittel zum Herauswaschen der einzelnen Fraktionen aus den Trennsäulen 5 reines, vorzugsweise entionisiertes Wasser verwendet wird.

8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Elutionstemperatur zwischen der Raumtemperatur und der Stabilitätsgrenztemperatur der verwendeten Harze, vorzugsweise bei 50°-65°C liegt.

9. Verfahren nach Anspruch 1 und 3, dadurch gekennzeichnet, daß nur der in 10 den "Vorsäulen" befindliche schwach saure Kationenaustauscher nach seiner vollkommenen Beladung mit den Kationen der Fermentationslösung mit einer verdünnten starken Mineralsäure, vorzugsweise mit einer 1 - 2 n Schwefelsäure regeneriert wird.

10. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die bei der 15 Regeneration der Harze in den Vorsäulen anfallende verdünnte Salzlösung durch salzspaltende Elektrodialyse in die korrespondierenden Säuren und Basen gespalten und wieder in den Prozeß zurückgeführt werden.

IA-Chromatographie der "Feed"-Lösung 1
mit Hilfe von Dowex Mono C 356 CA
stark saurer Kationenaustauscher in der NH_4 -Form

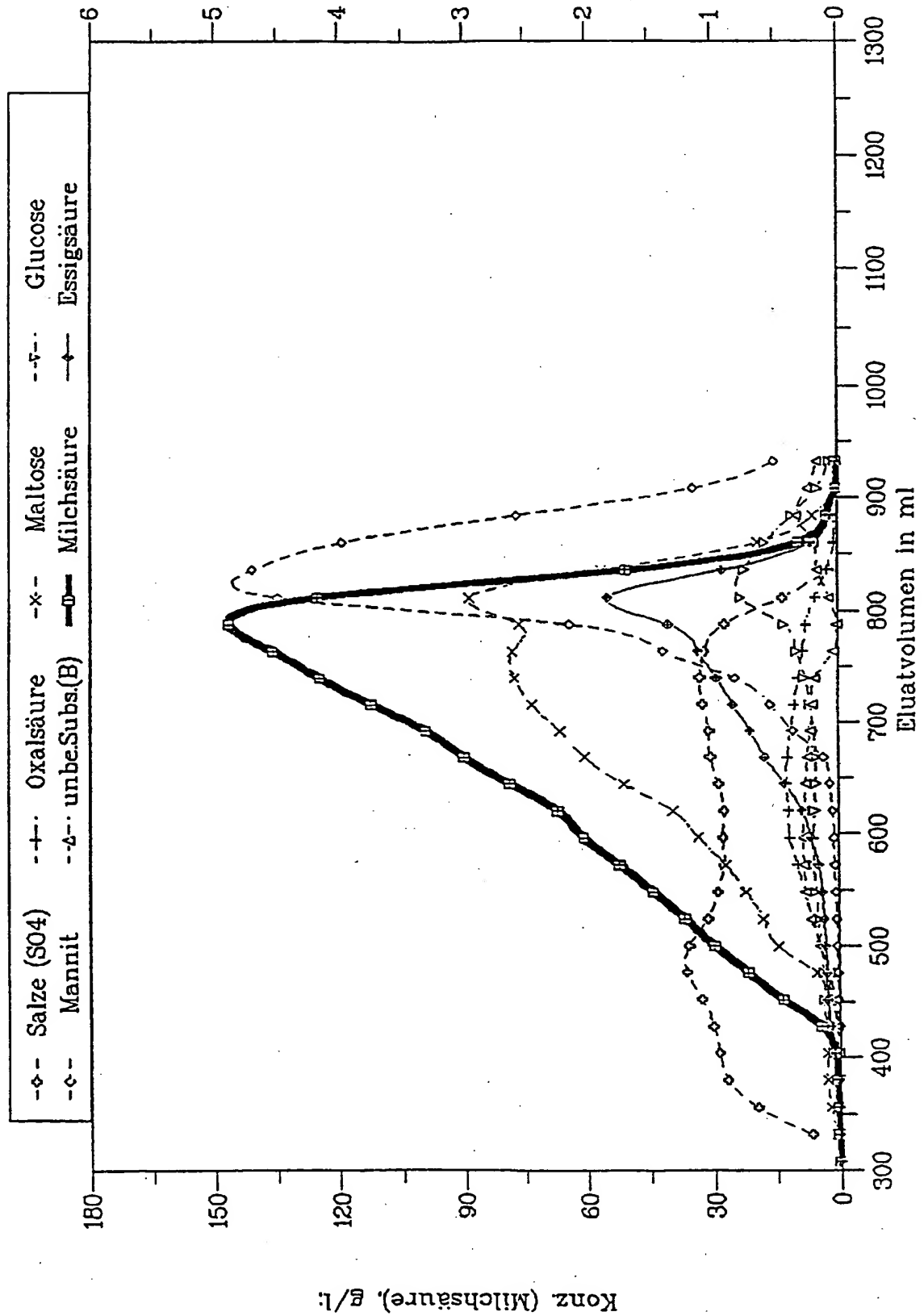


Fig. 1

IA-Chromatographie der "Feed"-Lösung 2
mit Hilfe von Dowex Mono C 356 CA
stark saurer Kationenaustauscher in der H-Form

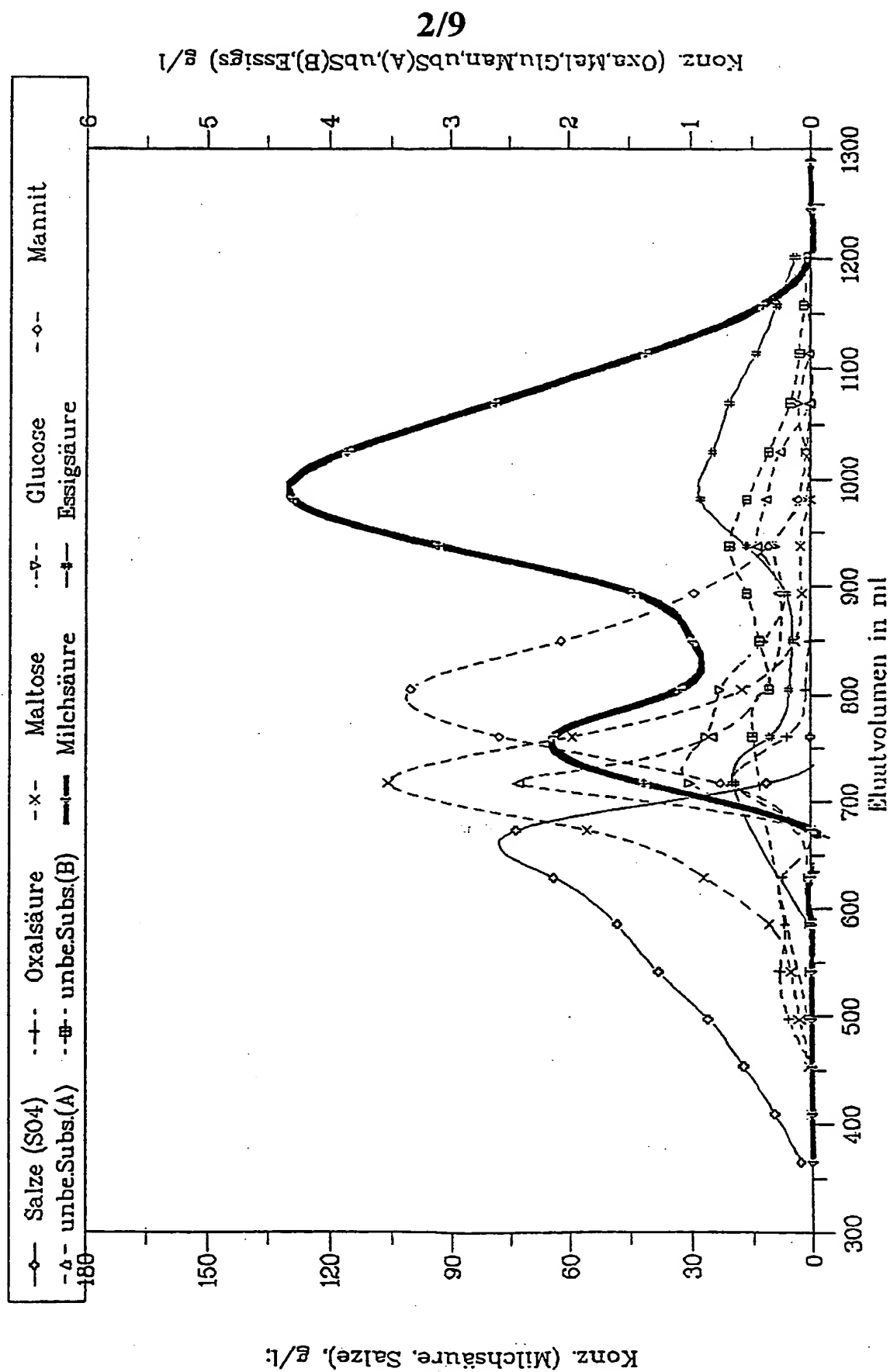


Fig. 2

IA-Chromatographie der "Feed"-Lösung 2
mit Hilfe von Dowex Mono C 356 CA
stark saurer Kationenaustauscher in der H-Form

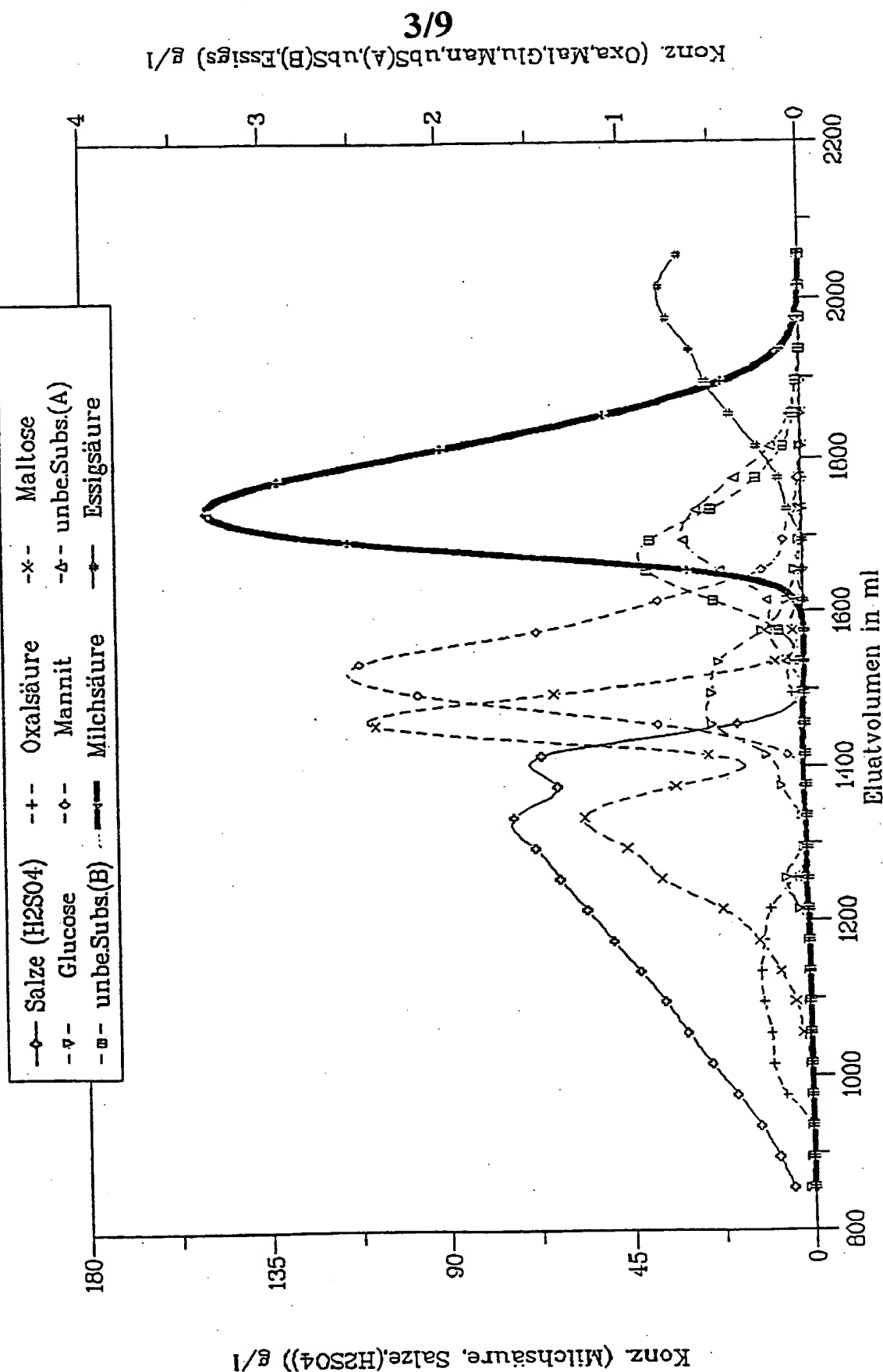


Fig. 3

IA-Chromatographie der "Feed"-Lösung 1
mit Hilfe von Dowex Mono C 356 CA
stark saurer Kationenaustauscher in der H-Form

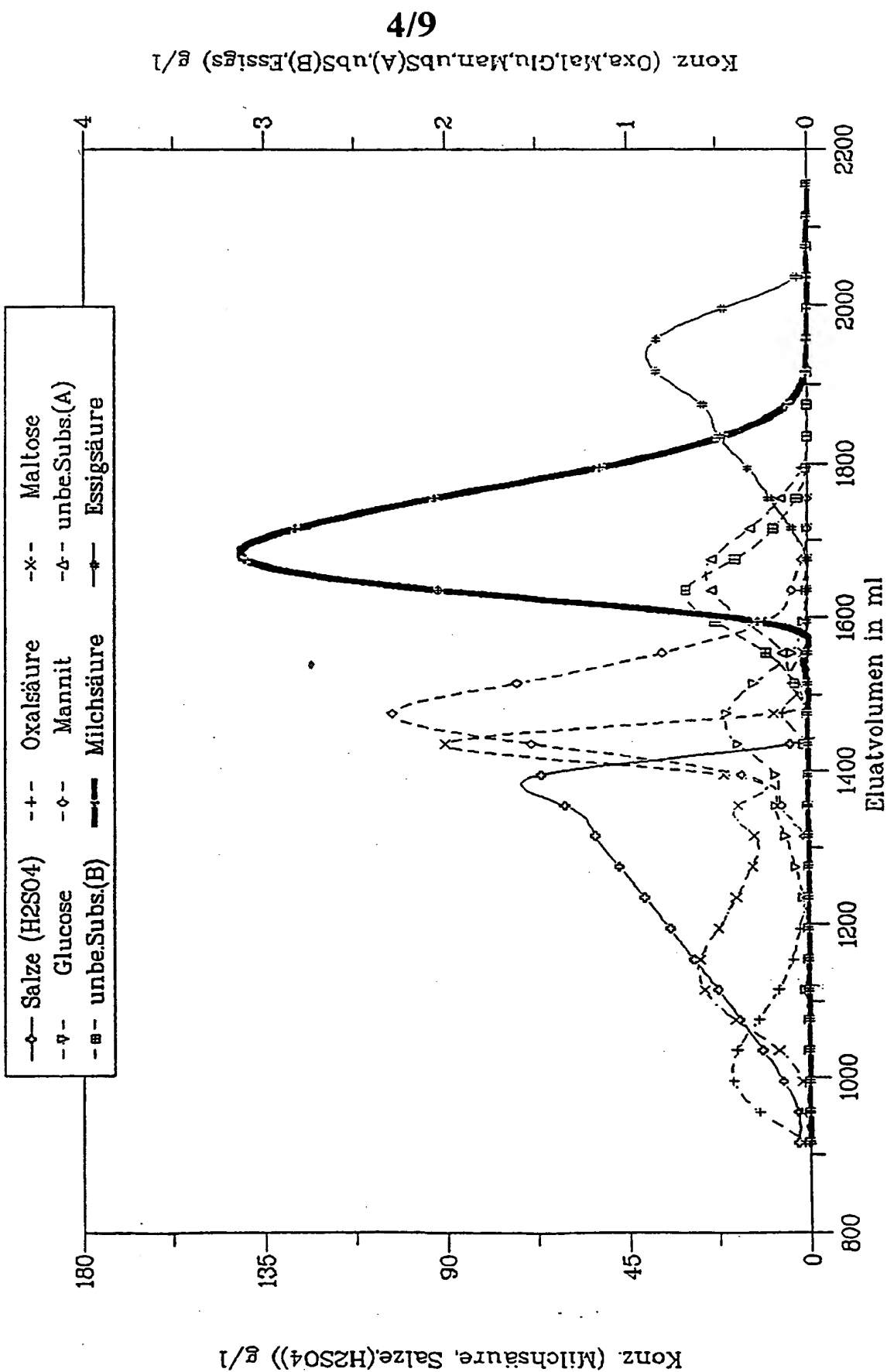


Fig. 4

IA-Chromatographie der "Feed"-Lösung 1 mit Hilfe von
DOWEX MWC-1 (Vorsäule) und DOWEX Mono C 356 CA (Trennsäule)
schwach und stark saure Kationenaustauscher in der H-Form

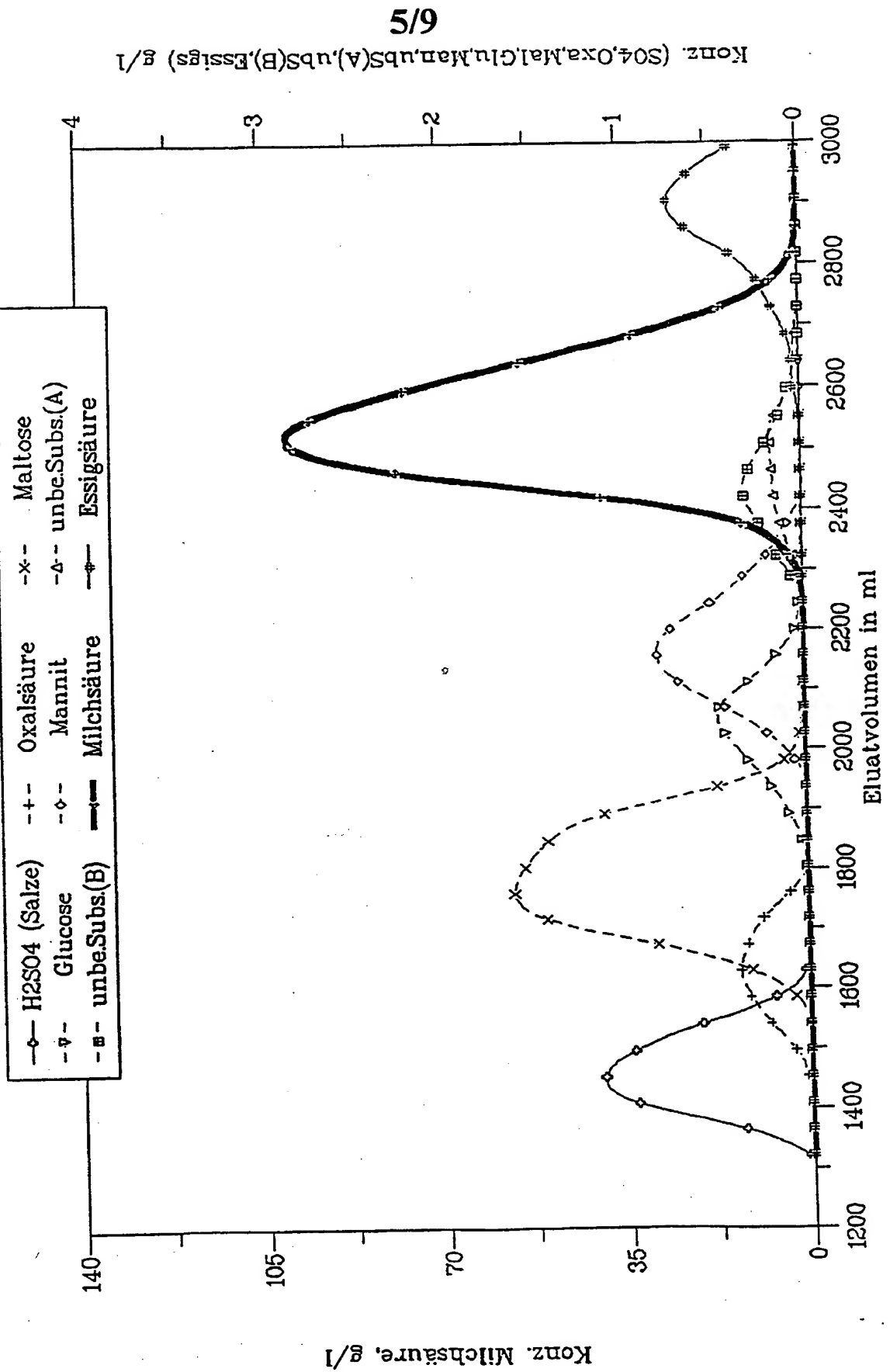


Fig. 5

IA-Chromatographie der "Feed"-Lösung 1 mit Hilfe von
LEWATIT MDS 1368 (Vorsäule) und DOWEX Mono C 356 (Trennsäule)
beide sind stark saure Kationenaustauscher in der H-Form

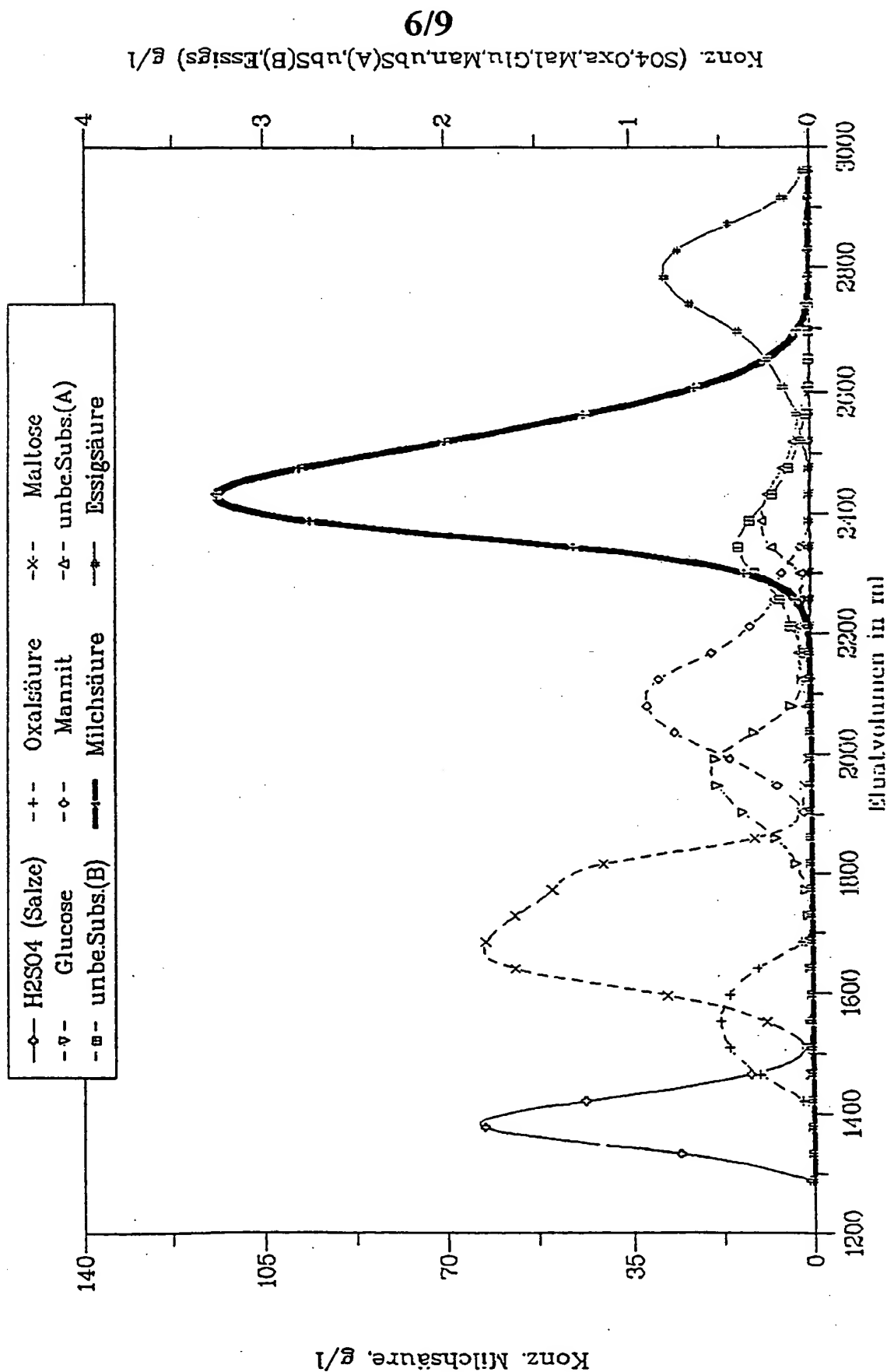


Fig. 6

7/9

Regeneration des schwach sauren
Kationenaustauschers Dowex MWC-1 in der "Vorsäule"
mit 1 n H₂SO₄ bei 55 grd C

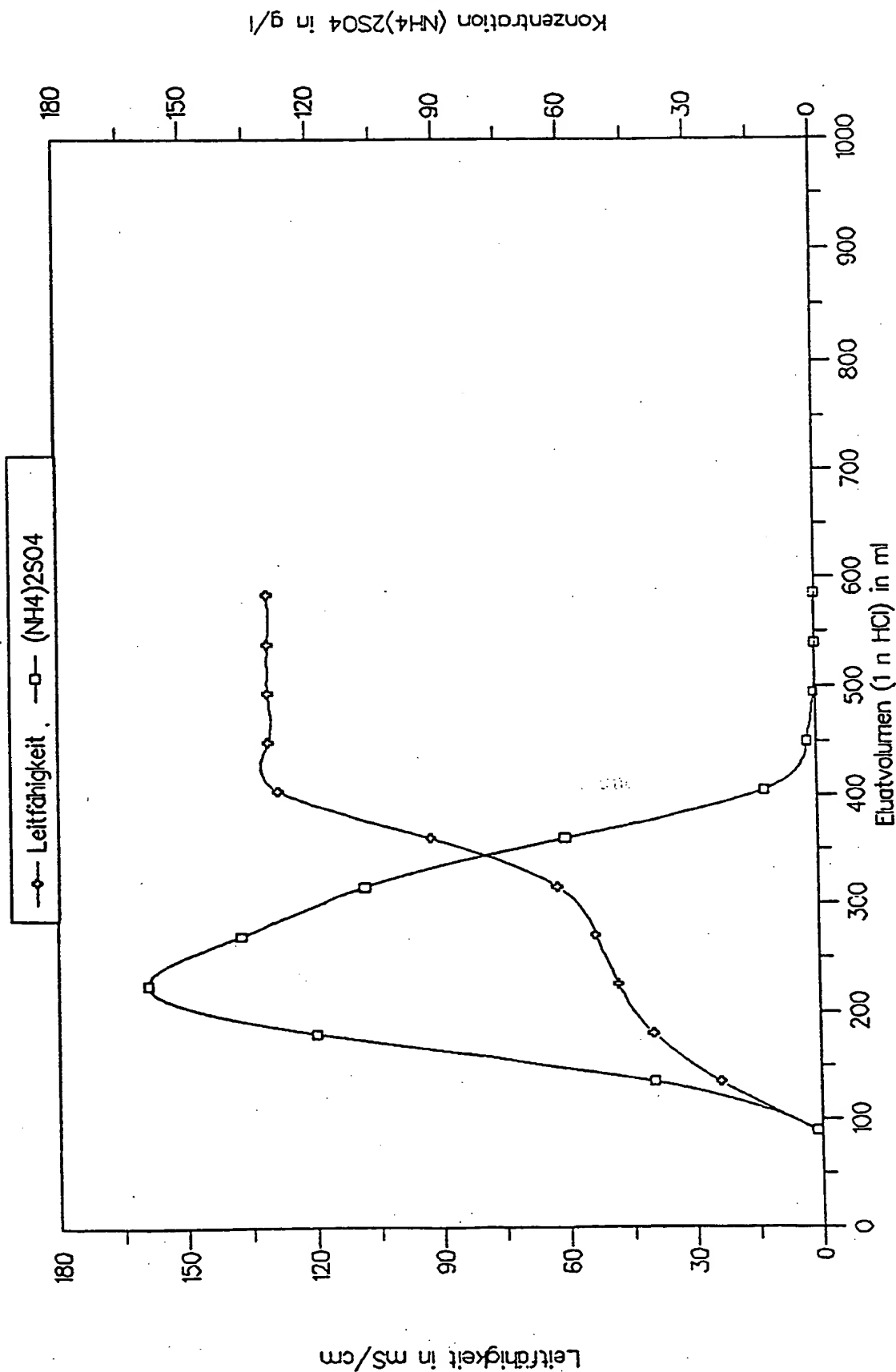


Fig. 7

Regeneration des stark sauren
Kationenaustauschers Lewatit MDS-1368 in der "Vorsäule"
mit 1 n H₂SO₄ bei 55 grad C

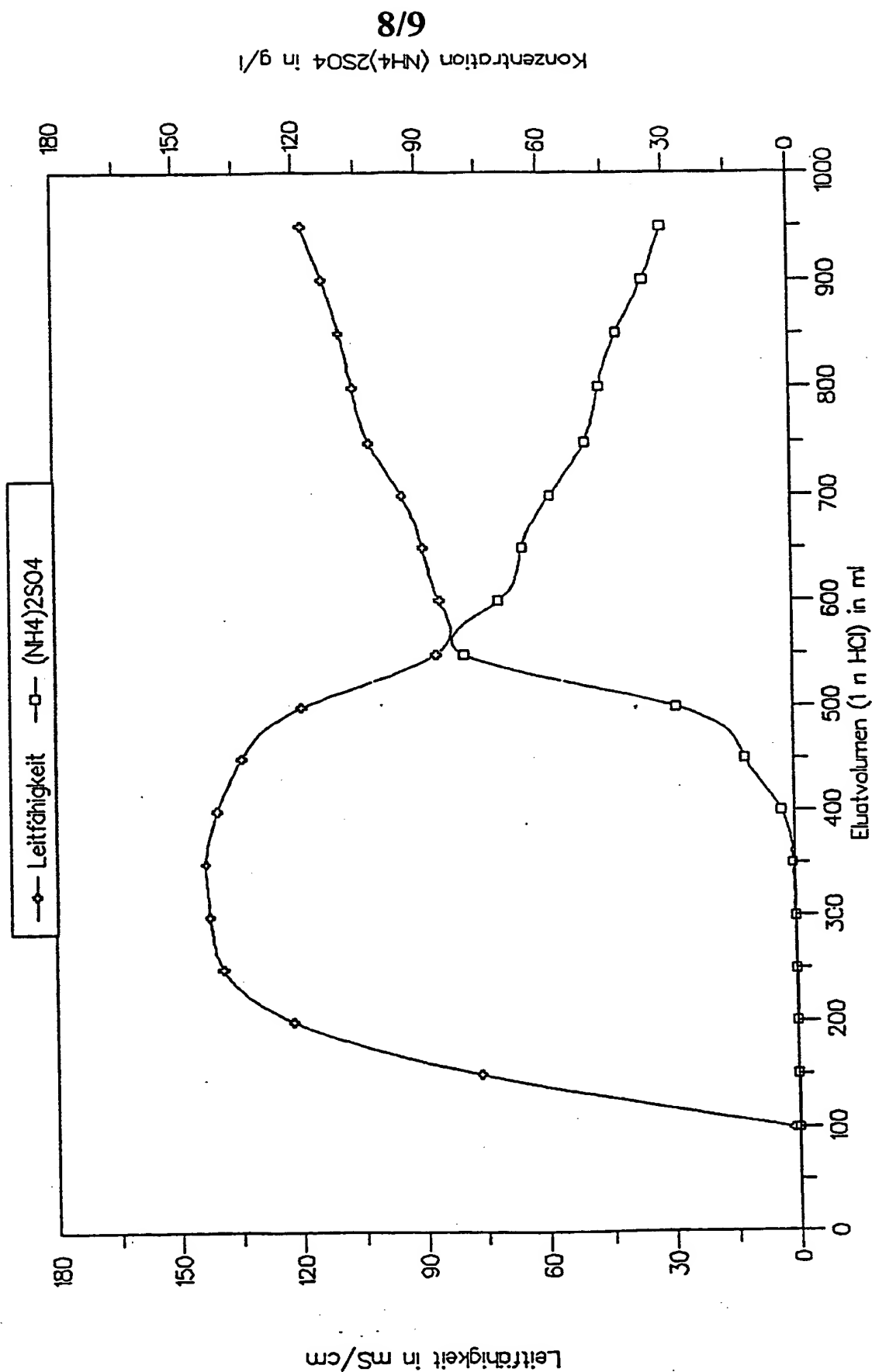


Fig. 8

9/9

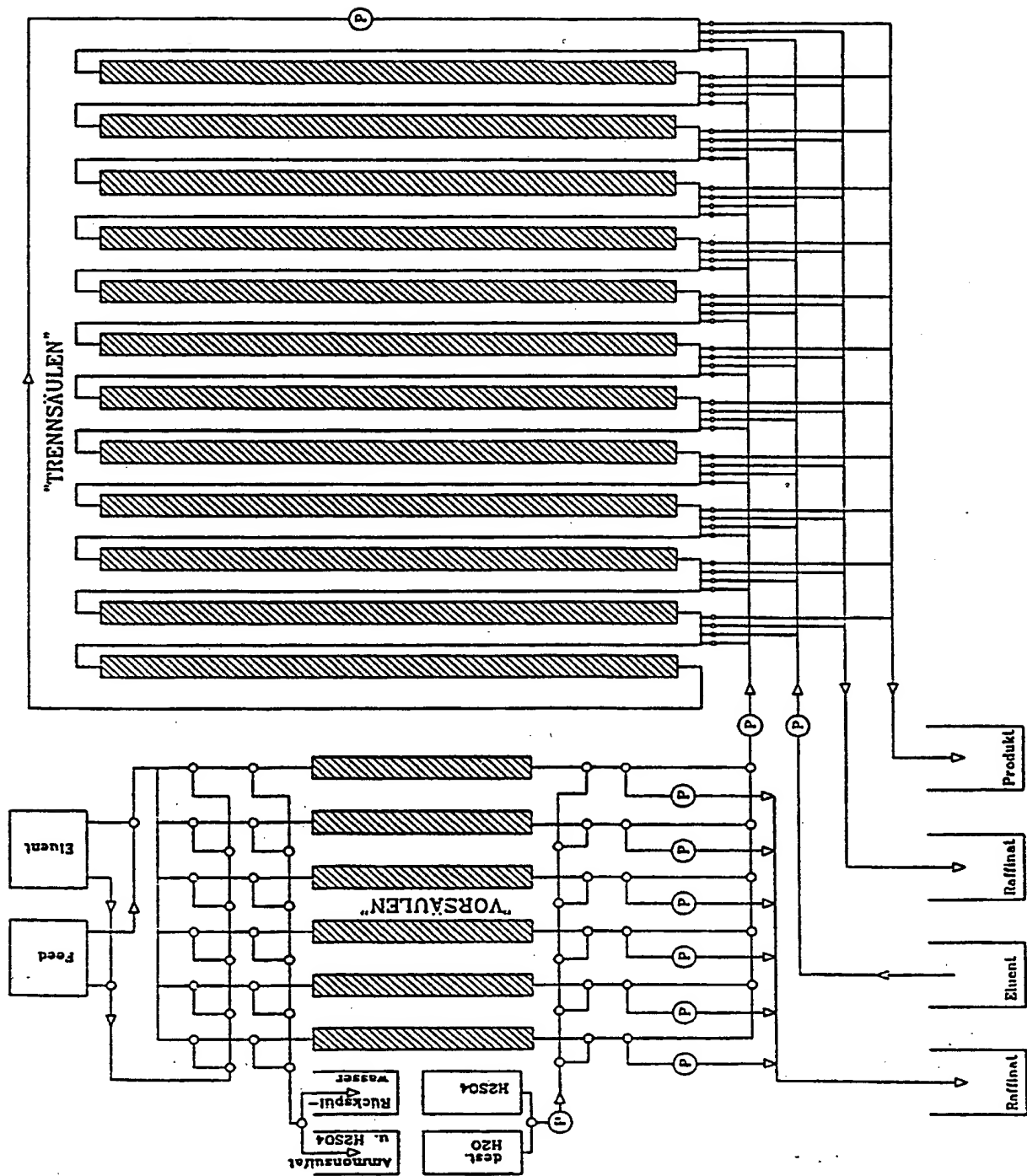


Fig. 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

al Application No

/AT 94/00016

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 C07C51/47

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 5 C07C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 78, no. 21, 28 May 1973, Columbus, Ohio, US; abstract no. 135586b, NAPIERALA, W. ET AL. 'Production of alimentary lactic acid of high purity' page 326 ; see abstract & PRZEM. FERMENT. ROLNY vol. 16, no. 12 , 1972 pages 4 - 10 ---	1,3,7
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 12, no. 110 (C-486)8 April 1988 & JP,A,62 238 232 (RESEARCH ASSOCIATION FOR THE UTILIZATION OF LIGHT OIL) 19 October 1987 see abstract --- -/-	1,3,7

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 May 1994

Date of mailing of the international search report

21. 06. 94

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Janus, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PC 94/00016

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR,A,2 455 022 (ROQUETTE FRERES, S.A.) 21 November 1980 page 12 and 13; example 1 ---	1-10
A	BE,A,878 531 (ROQUETTE FRERES, S.A.) 29 February 1980 page 18-25; example 3 ---	1-10
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 111, no. 9, 28 August 1989, Columbus, Ohio, US; abstract no. 76533p, 'Purification of lactic acid from fermentation broth' page 628 ; see abstract & JP,A,1 091 788 (SHIMADZU CORPORATION) 11 April 1989 -----	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

1/AT 94/00016

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR-A-2455022	21-11-80	NONE	
BE-A-878531	29-02-80	FR-A- 2434796	28-03-80
		CA-A- 1135718	16-11-82
		DE-A- 2935257	13-03-80
		GB-A, B 2033892	29-05-80
		NL-A- 7906514	04-03-80
		US-A- 4288619	08-09-81
JP-A-1091788	11-04-89	NONE	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 5 C07C51/47

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 5 C07C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 78, no. 21, 28. Mai 1973, Columbus, Ohio, US; abstract no. 135586b, NAPIERALA, W. ET AL. 'Production of alimentary lactic acid of high purity' Seite 326 ; siehe Zusammenfassung & PRZEM. FERMENT. ROLNY Bd. 16, Nr. 12 , 1972 Seiten 4 - 10	1,3,7
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 12, no. 110 (C-486)8. April 1988 & JP,A,62 238 232 (RESEARCH ASSOCIATION FOR THE UTILIZATION OF LIGHT OIL) 19. Oktober 1987 siehe Zusammenfassung	1,3,7
	--- -/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. Mai 1994

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

21. 06. 94

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Janus, S

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	FR,A,2 455 022 (ROQUETTE FRERES, S.A.) 21. November 1980 Seiten 12 und 13; Beispiel 1 ---	1-10
A	BE,A,878 531 (ROQUETTE FRERES, S.A.) 29. Februar 1980 Seiten 18-25; Beispiel 3 ---	1-10
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 111, no. 9, 28. August 1989, Columbus, Ohio, US; abstract no. 76533p, 'Purification of lactic acid from fermentation broth' Seite 628 ; siehe Zusammenfassung & JP,A,1 091 788 (SHIMADZU CORPORATION) 11. April 1989 -----	1-10

INTERNATIONÄLER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die  en Patentfamilie gehören

Intern  les Aktenzeichen

PC  94/00016

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
FR-A-2455022	21-11-80	KEINE	
BE-A-878531	29-02-80	FR-A- 2434796	28-03-80
		CA-A- 1135718	16-11-82
		DE-A- 2935257	13-03-80
		GB-A, B 2033892	29-05-80
		NL-A- 7906514	04-03-80
		US-A- 4288619	08-09-81
JP-A-1091788	11-04-89	KEINE	